Über die Bedeutung der Dopamin-ß-hydroxylase für die Schilddrüsendiagnostik

Ursula Jakob

1982

Aus der Medizinischen Klinik C der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. H.-L. Krüskemper

Über die Bedeutung der Dopamin-ß-hydroxylase für die Schilddrüsendiagnostik

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Ursula Jakob

1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez.: Prof. Dr G. Arnold

Referent
gez.: Prof. Dr. J. Herrmann
Korefernt
gez.: Prof. Dr. K.H. Vogelberg

Inhaltsverzeichnis

Tabelle der Abkürzungen

1. Einleitung

2. Biochemie und Methoden

2.1. Biochemie der Schilddrüsenhormone

2.2. Radioimmunologische Bestimmungsmethode der T_3 und T_4 Konzentration im Serum

2.3. TRH Test

2.4. Photometrische Bestimmungsmethode der Dopamin-ß-hydroxylase Aktivität

3. Ergebnisse

3.1. Tagesprofil und Messungen von Tag zu Tag der DBH-Aktivität bei Normalpersonen

3.1.1. Tagesprofilmessungen

3.1.2. Messungen von Tag zu Tag

3.2. DBH-Aktivität bei Normalpersonen

3.3.1. DBH-Aktivität bei Hyper- und Hypothyreosen

3.3.2. Verlaufsmessungen der DBH-Aktivität bei Hyper- und Hypothyreosepatienten - 2 Langzeitverläufe -

3.4. DBH-Aktivität von Normalpersonen bei täglicher Einnahme von 1oo μg LT_3

4. Diskussion

5. Zusammenfassung

6. Literaturverzeichnis

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538105_0072

Tabelle der Abkürzungen

DBH	Dopamin-ß-hydroxylase
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
t-RNS	transfer-Ribonukleinsäure
m-RNS	messenger-Ribonukleinsäure
T_3	Trijodthyronin
T_4	Thyroxin
rT_3	reverse-Trijodthyronin
TBG	Thyroxin-bindendes Globulin
TBPA	Thyroxin-bindendes Präalbumin
TRH	Thyreotropin-Releasing-Hormon
TSH	Thyroidea stimulierendes Hormon
RIA	Radio-immuno-assay
ANS	8-Anilino-1-naphtalen-sulfonsäure
NNM	Nebennierenmark
PNMT	Phenyläthanol-N-methyltransferase
MG	Molekulargewicht

1. Einleitung

Die Schilddrüsenhormone nehmen in Wechselwirkung mit fast allen anderen Hormonen Einfluß auf zahlreiche Stoffwechselvorgänge.
Als vielleicht entscheidender Effekt wird in der neueren Literatur die Beeinflußung der Proteinbiosynthese angesehen (39).
Schilddrüsenhormone stimulieren über eine Steigerung der Aminosäure-Heranführung der t-RNS die Translation der m-RNS an den Ribosomen und damit die Proteinbiosynthese. Weiterhin findet im Zellkern durch Aktivitätssteigerung der RNS-Polymerase eine beschleunigte Transcription statt.

Die mit der Steigerung der Proteinbiosynthese resultierende anabole Wirkung ist aber dosisabhängig, da hohe Hormonkonzentrationen zu einer katabolen Wirkung mit negativer Stickstoffbilanz führen.
Von dieser, von der Hormonkonzentration abhängigen Proteinsynthesegeschwindigkeit ist auch eine wechselnde Enzymproduktion und damit Enzymaktivität abzuleiten, mit der wiederum andere Effekte der Schilddrüsenhormone erklärbar werden könnten:

- die Aktivitätssteigerung der Enzyme des oxydativen Stoffwechsels, die zu einem vermehrten Sauerstoffverbrauch im Organismus führen,
- die erhöhte ATPase Aktivität, die eine vermehrte Bereitstellung von ADP zur Folge hat (32).

Dosisabhängige Wirkungen wie beim Proteinstoffwechsel lassen sich auch beim Kohlehydrat- und Fettstoffwechsel beobachten, die möglicherweise auch auf einer unterschiedlichen Enzymaktivität beruhen:

- erhöhte Schilddrüsenhormonkonzentrationen führen zu einem rascheren Glykogenabbau und zur Zunahme der Glucose-6-phosphatase-Aktivität.

Ob alle Stoffwechselwirkungen der Schilddrüsenhormone von ihrem Effekt auf die Protheinsynthese abgeleitet werden können und über welche Angriffspunkte der Proteinsynthese diese Einflußnahme erfolgt, bleibt weiterhin unklar.

Einige Effekte eines erhöhten Schilddrüsenhormonangebotes an die peripheren Organe sind inzwischen bekannt und teilweise auch diagnostisch genutzt worden.
So kann z.B. bei Hyperthyreose:

- der Cholesterinspiegel im Serum, obwohl die Synthese gesteigert ist, eher niedrig sein, da ein rascherer Abbau bzw. eine vermehrte Umwandlung des Cholesterins in Gallensäuren stattfindet,
- der Grundumsatz bei gesteigertem O_2 Verbrauch erhöht sein,
- die Aktivität der alkalischen Phosphatase erhöht sein, aufgrund eines gesteigerten Knochenstoffwechsels,
- die Nervenleitgeschwindigkeit verkürzt sein, meßbar an einer Verkürzung der Achillessehnenreflexzeit,
- die Empfindlichkeit des Herzens gegenüber Katecholaminen gesteigert sein, was sich in einer Erhöhung der Herzfrequenz und Zunahme der Druckanstiegsgeschwindigkeit äußert.

Diese Parameter sind aber weder in der Routinediagnostik von Schilddrüsenerkrankungen noch in wissenschaftlichen Fragestellungen mit ausreichender Verlässlichkeit verwendbar, da ihre Spezifität und Sensitivität als Schilddrüsen-Test gering sind.
So kommt Ihnen allenfalls eine Bedeutung in der intraindividuellen Therapiekontrolle zu.

Auch die im Serum meßbaren Schilddrüsenhormonkonzentrationen korrelieren nicht immer mit dem klinischen Erscheinungs-

bild, und ein direkter, praktikabler, sensitiver und spezifischer Parameter, an dem das Ausmaß der Wirkungen von Schilddrüsenhormonen auf den peripheren Zellstoffwechsel ablesbar ist, ist trotz intensiver Suche immer noch nicht gefunden.

Die klinischen Symptome der Hyperthyreose, wie Tachykardie, Herzklopfen, große Blutdruckamplitude, Hyperhidrosis und Wärmeintoleranz weisen auf einen Synergismus zwischen Schilddrüse und sympathischem Nervensystem hin.
Dieser enge Zusammenhang veranlaßte Nishizawa et al (25) und Noth et al (26) die Aktivität der Dopamin-ß-Hydroxylase, die in der Katecholaminsynthese die Umwandlung von Dopamin zu Noradrenalin bewirkt, im Serum von hyper- und hypothyreoten Probanden zu messen.
In beiden Arbeiten wird eine gegenüber Euthyreose niedrige DBH-Aktivität bei Hyperthyreose und ein Ansteigen der Enzymaktivität mit Normalisierung der Stoffwechsellage unter der Therapie festgestellt.
Nishizawa fand im Gegensatz zu Noth bei Hypothyreose von der Euthyreose abweichende erhöhte DBH-Aktivitätswerte.
Noth leitet aus diesen Labormessungen die Hypothese einer verminderten sympathischen Aktivität bei hyperthyreoter Stoffwechsellage ab.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit war, zu prüfen, ob die aufgrund dieser Untersuchungen propagierten Zusammenhänge zu einem brauchbaren direkten Parameter in der Diagnosestellung einer Hyper- oder Hypothyreose führen könnten.

2. Biochemie und Methoden

2.1. Biochemie der Schilddrüsenhormone

Die Biosynthese der Schilddrüsenhormone vollzieht sich in folgenden Schritten:

1. über "Jodfangmechanismus" Aufnahme von Jodid in die Schilddrüse
2. Oxydation von Jodid zu Jod durch eine Peroxydase
3. Jodierung der Tyrosinreste des Thyreoglobulins
4. Konjugation von Mono- und Dijodtyrosinen
5. Proteolytische Abspaltung und Freisetzung von hormonunwirksamen Thyroninen und den aktiven Schilddrüsenhormonen: Trijodthyronin und Thyroxin

Die Schilddrüse ist das einzige endokrine Organ, das die Fähigkeit besitzt, Hormone über längere Zeit zu speichern, vermutlich als Anpassung an die unterschiedliche Jodnahrungsaufnahme (28).
Durch enzymatische Abspaltung werden täglich 6o-8o µg T_4 und 7-12 µg T_3 aus dem Thyreoglobulin der Schilddrüse freigesetzt, wobei sich die Produktion von T_3 durch Dejodierung von T_4 in den peripheren Geweben auf 2o-25 µg/die erhöht.
Im Blut sind die Schilddrüsenhormone zu einem hohen Prozentsatz an Trägerproteine gebunden:

-- freies T_4 findet sich nur in einer Konzentration von 1,65-4,o5 ng/dl, entsprechend o,o3% (Gesamt T_4: 5,5-13,5 µg/dl)
-- T_3 liegt wegen einer geringeren Affinität zum Trägerprotein zu o,2% ungebunden vor, entsprechend o,2-o,4 ng/dl (Gesamt T_3 8o-2oo ng/dl)

Nur die ungebundenen Hormone können in die Körperzellen eindringen und damit stoffwechselwirksam werden. Da --die biologische Halbwertszeit von T_3 (19 Std.) zehnfach kürzer als die von T_4 (19o Std.) ist,
--T_3 ungefähr 7-fach schwächer an Transportproteine gebunden ist
--und zudem rund 4o% des täglich gebildeten T_4 in T_3 überführt wird
kommt dem Thyroxin wahrscheinlich nur eine geringe Bedeutung im Stoffwechsel zu und ist vielleicht sogar nur als Hormonvorstufe für Trijodthyronin aufzufassen.

Regulation der Schilddrüsenhormonsekretion

Die freien Hormonkonzentrationen von T_3 und T_4 führen über eine negative Rückkopplung zu einer Hemmung der TSH Ausschüttung aus dem Hypophysenvorderlappen. TSH wirkt über Stimulation der Adenylzyklase in der Schilddrüsenzellmembran fördernd auf alle Zwischenschritte der Schilddrüsenhormonsynthese. Die physiologische Rolle des TRH, das die Synthese und Ausschüttung des TSH aus dem Hypophysenvorderlappen stimuliert, ist noch nicht in allen Teilen geklärt.

2.2. Radioimmunologische Bestimmungsmethode der T_3- und T_4-Konzentration im Serum

Mit dem RIA-T_3 und dem RIA-T_4 (Radio-Immuno-Assay) werden die Gesamthormonkonzentrationen der Schilddrüsenhormone T_3 und T_4 gemessen.
Das Prinzip dieser Bestimmungsmethode beruht auf einer kompetitiven Proteinbindungsreaktion: radioaktivmarkiertes T_3 bzw. T_4 und endogenes Serumhormon konkurrieren um die Bindung an spezifischen Antikörpern. Wird eine bestimmte Menge von Antikörpern mit einem definiertem Überschuß an radioaktivmarkierten Hormonen (T_3 o.T_4) zusammen mit einer Serumprobe inkubiert, so ist die Bindung der radioaktivmarkierten Hormone am Antikörper umgekehrt proportional der Hormonkonzentration des zugesetzten Serums, das heißt: je höher die Konzentration von T_3 bzw. T_4 im Serum, desto mehr radioaktivmarkiertes Hormon wird ungebunden bleiben.
Um die Gesamthormonkonzentration von T_3 und T_4 messen zu können, werden sie im Versuchansatz mittels Barbitalpuffer und 8-Anilino-naphtalen-sulfonsäure (ANS) aus ihrer Proteinbindung (TBG u. TBPA) freigesetzt.
Nach Ablauf der Konkurrenzreaktion zwischen radioaktivmarkiertem Hormon und Serumhormon am spezifischen Antikörper, erfolgt die Trennung von gebundener und freier Radioaktivität durch Inkubation mit Dextran beschichteter Aktivkohle und anschließender Zentrifugation.
Im Überstand befindet sich das gebundene, an der Aktivkohle das freie Hormon.
Die am Antikörper gebundene Radioaktivität ist, wie erwähnt, der Konzentration an endogenem Hormon umgekehrt proportional.

Mitführen von Ansätzen mit bekannten unmarkierten Hormonkonzentrationen, ermöglichen die Erstellung einer Eichkurve, aus der sich die Hormonkonzentrationen der Serumproben ablesen lassen.

Normalbereich:

RIA-T_3 :	80-200	ng/dl
RIA-T_4 :	4,5-13,5	µg/dl

2.3. TRH Test

Der TRH Test gibt Aufschluß über das Ausmaß der negativen Rückkopplung zwischen Schilddrüsen- und Hypophysenfunktion. Einer TRH-Gabe folgt unter normalen Stoffwechselbedingungen ein rasches Ansteigen der TSH Freisetzung (mit Verzögerung auch eine vermehrte Synthese), dessen Maximum nach 30 min. erreicht ist. Diese Ausschüttung unterbleibt bei hyperthyreoter Stoffwechsellage aufgrund der hemmenden Wirkung der erhöhten Schilddrüsenhormonkonzentrationen auf die Hypophyse.

Durchführung des TRH Test:

1. Venenblutabnahme (5ml) zur Bestimmung der basalen TSH Konzentration
2. Intravenöse Injektion von 400 µg TRH
3. 30 min. nach TRH-Gabe erneute Blutabnahme und Bestimmung von TSH

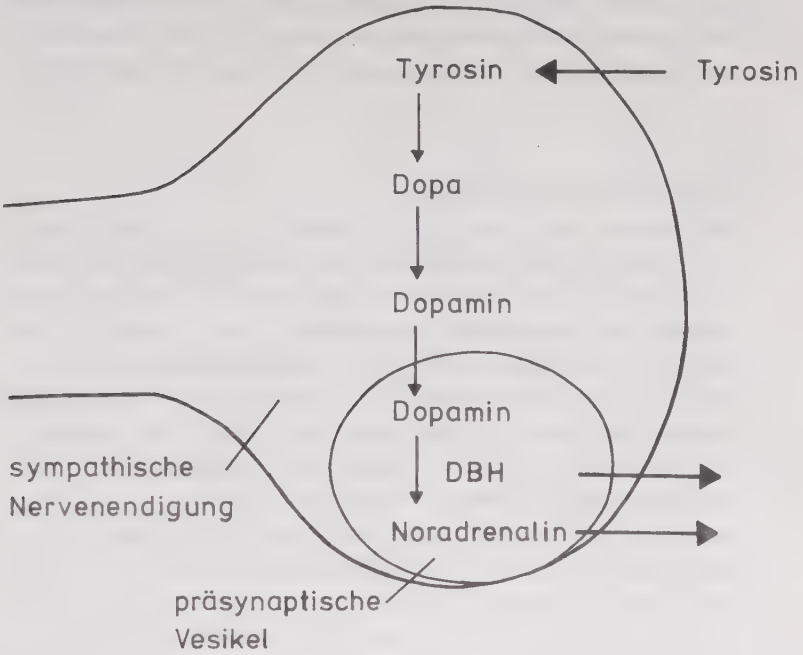
Die TSH Bestimmung erfolgte radioimmunologisch.

Normalbereich der TSH Antwort auf TRH:

RIA-TSH_{basal} :	0 -	5	µU/ml Serum
RIA-$TSH_{30\ min}$:	2,5 -	23	µU/ml Serum

2.4. Biochemie der Dopamin-ß-hydroxylase

Die DBH katalysiert den letzten Schritt der Noradrenalinsynthese von Dopamin zu Noradrenalin.
Die Synthese vollzieht sich in folgenden Schritten:



Tyrosin wird durch einen Konzentrierungsmechanismus in adrenerge Nervenendigungen transportiert und über die Tyrosin Hydroxylase und die aromatische L-Aminosäure-Decarboxylase in Dopamin umgewandelt. Dopamin tritt in die granulierten Vesikel ein und wird dort durch die DBH in Noradrenalin überführt. Im Nebennierenmark entsteht aus dem Noradrenalin zu 80% Adrenalin mit Hilfe der dort ansässigen Phenyläthanol-N-methyltransferase. Der die Katecholaminsynthese limitierende Schritt ist die Umwandlung von Tyrosin zu Dopa.

Molekulargewicht

Die Dopamin-ß-hydroxylase ist ein Glykoprotein, dessen MG von Friedmann und Kaufmann (8) mit 3oo.ooo, von Miras-Portugal (21) mit 25o.ooo angegeben wird.
Ikeno (16) isolierte zwei verschiedene Molekularformen der DBH im menschlichen Serum: eine größere Komponente mit einem MG von 368.ooo und einer höheren Spezifität und eine kleinere Komponente mit einem MG von 188.oo und einer geringeren Spezifität.

Aktivatoren , Inhibitoren

Das Enzym wird zudem als ein Kupferprotein beschrieben (38), und Kupfer fördert in bestimmten Konzentrationen (3-5 umol/l) die Enzymaktivität, wahrscheinlich durch Hemmung der endogenen Inhibitoren (s.u.), während es in höheren Konzentrationen selber hemmend wirkt (24).
Das Enzym kann weiterhin als sehr unspezifisch charakterisiert werden, denn es akzeptiert nicht nur Dopamin sondern eine Vielzahl anderer Phenyläthylaminderivate als Substrat: Tyramin, Epinin etc. (1o).
Auf der Suche nach Inhibitoren fand Creveling (1o), daß Benzylhydrazin, mit einer Seitenkette isosterisch zu Phenyläthylamin , und in gewissem Maße auch Serotonin und Tryptamin eine Hemmung auf die DBH-Aktivität in vitro ausüben. Nagatsu (23) beschrieb als Inhibitoren zahlreiche Sulfhydrylgruppen tragende Substanzen, wie: Cystein (D- und L-, nicht aber Cystin), Glutathion, Coenzym A etc., und er vermutete, daß diese Hemmung über eine Bindung des Enzymkupfers abläuft. Diese Kupferchelatbildung wird auch dem EDTA zugeschrieben, dessen inhibitorische Wirkung Markianos et al (2o) feststellten.
Die Wirkung natürlicher endogener Inhibitoren der DBH, die in jedem Organ der Ratte nachgewiesen werden konnten, schrieb Nagatsu eben diesen Sulfhydrylgruppen zu, und er

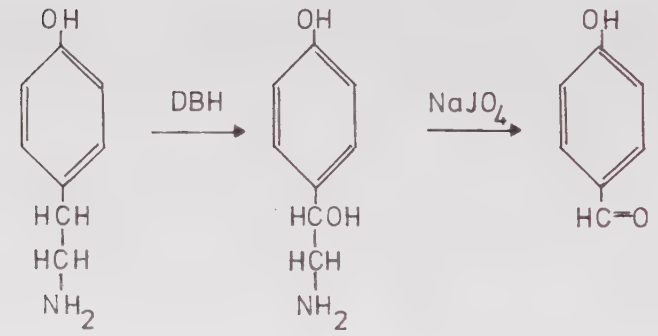
weist auch nach, daß N-äthylmaleinimid über Reaktion mit den Sulfhydrylgruppen diese Hemmung in vitro aufheben kann.

Lokalisation

Die DBH befindet sich hauptsächlich in den chromaffinen Granula im NNM (17) und in den katecholaminhaltigen präsynaptischen Vesikeln der sympathischen Nervenendigungen (29).
Viveros et al (43) zeigten, daß nach Stimulation der isolierten Rindernebenniere mit Acetylcholin die DBH zusammen mit den Katecholaminen freigesetzt wird, und mehrfach wurde bewiesen, daß nervale Reizung der isolierten, perfundierten Milz zu einer Sezernierung der DBH führt (10,11,30).
Goldstein et al (12) wiesen die DBH ebenfalls im NNM und in geringerer Aktivität auch im Herzen, in den Speicheldrüsen und sogar im Hirnstamm von Ratten nach.
Man kann davon ausgehen, daß die DBH sich wahrscheinlich in allen vom sympathischen Nervensystem innervierten Geweben nachweisen läßt.
Die DBH liegt in den Vesikeln in löslicher und gebundener Form vor, und Weinshilboum (47)nahm an, daß nur der lösliche Teil mittels Exozytose freigesetzt wird. Da aber die DBH zu 85% an der Vesikelmembran gebunden vorliegen soll, folgerte er daraus, daß die Vesikel mehrmals "benutzt" werden.
Nach Freisetzung aus den präsynaptischen Vesikeln wird die Dopamin-ß-hydroxylase im Gegensatz zu den Katecholaminen nicht wieder aufgenommen und hat daher eine längere Halbwertszeit im Serum (33).Grzanna und Coyle (14) gaben die Halbwertszeit der DBH im Serum von Ratten, ähnlich wie die von anderen Serumproteinen, mit 4,2 Tagen an.
Im Blut ist die DBH nicht an zelluläre Bestandteile gebunden, und es besteht auch kein Aktivitätsunterschied zwischen Plasma und Serum (45).

2.5. Photometrische Bestimmungsmethode der Dopamin-ß-Hydroxylase Aktivität nach Toshiharu Nagatsu und Sidney Udenfriend (24)

Das Prinzip dieser Bestimmungsmethode basiert auf der enzymatischen Umwandlung von Tyramin zu Octopamin durch die DBH. Nach der Oxidation von Octopamin zu Parahydroxybenzaldehyd wird dieses photometrisch gemessen.



Tyramin Octopamin p-hydroxybenzaldehyd

Das Serum wurde mittels Venenpunktion gewonnen. Das Enzym erwies sich als sehr stabil. Nach Inkubation von Seren bei über 37°C über 7 Tage wurden keine Aktivitätsänderungen gegenüber den Ausgangswerten festgestellt (6), und Serum kann monatelang im Kühlschrank eingefroren werden, ohne daß die DBH an Aktivität verliert (Nagatsu, Udenfriend, 24), wie auch eigene Messungen bestätigten.

Das Reaktionsoptimum für die DBH-Aktivitätsmessung liegt bei pH 5. Weinshilboum und Axelrod (45) wiesen nach, daß in Abwesenheit von Ascorbinsäure keine Aktivität meßbar ist, und Weglassen von Fumarat und Katalase einen signifikanten Abfall der DBH-Aktivität zur Folge hat. Sie stellten ebenfalls fest, daß die Reaktion die Anwesenheit von Sauerstoff benötigt. Eine leichte Stimmulierung der DBH-Aktivität wird durch Paragyline, einen Monoaminooxydasehemmer, erreicht (24). N-äthylmaleinimid wurde zur Ausschaltung der endogenen Inhibitoren der DBH im Serum verwandt (23).

Reagenzien

Natrium acetat Puffer ph 5		1 M/l
Fumarat		o,2 M/l
Ascorbinsäure		o,2 M/l
Katalase	15oo U /5o µl	= 1 mg/ml
Tyramin		o,4 M/l
Paragylin		2o mM/l
N-äthylmaleinimid		2oo mM/l
Trichloressigsäure		3 M/l
Dowex-5o Anionenaustauscher		H^+: 2oo-4oo mesh
NH_4OH		4 M/l
$NAJO_4$		2o g/l
$Na_2S_2O_5$		1oo g/l

Versuchsdurchführung:

Na-acetat Puffer	:	2oo µl
Fumarat	:	5o µl
Ascorbinsäure	:	5o µl
Katalase	:	5o µl
Tyramin	:	5o µl
Paragylin	:	5o µl
N-äthylmaleinimid	:	15o µl
Aqua bidest	:	38o µl
Serum	:	2o µl
		1ooo µl

Inkubation des Ansatzes für 6o min im 37° C Wasserbad, unter ständigem Schütteln

Stoppen der Reaktion mit o,2 ml Trichloressigsäure

Zentrifugation bei 3ooo U/min für 1o min

Transferrieren des Überstandes auf eine Säule von Dowex-5o (o,2 ml gepacktes Volumen)

Nachwaschen des Präzipitats im Ansatzröhrchen mit 1 ml Aqua bidest. Nach erneuter Zentrifugation wird auch dieser Überstand auf die Säule gegeben

Nachwaschen der Säule mit 2 x je 2 ml Aqua bidest

Die in der Säule absorbierten Amine werden mit 2 ml NH_4OH eluiert

Eluiertes Octopamin wird im Eiswasserbad mit o,2 ml $NaJO_4$ zu Parahydroxybenzaldehyd oxidiert, der Überschuß an $NaJO_4$ wird reduziert durch Zugabe von o,2 ml $Na_2S_2O_5$ (Natriumthiosulfat). Photometrische Extinktionsmessung gegen den Leerwert bei 33o nm.

Zu dieser Methode der Aktivitätsbestimmung (Nagatsu, Udenfriend (24)) ergab sich die Frage, ob schon im Serum primär vorhandenes Octopamin oder Parahydroxybenzaldehyd eventuell die Ergebnisse verfälscht.
1o Serumproben von je 5o µl wurden mit Trichloressigsäure enteiweißt. Nach Zentrifugieren wurden die Überstände auf die entsprechenden Säulen transferriert, die Säulen gewaschen und mit NH_4OH eluiert. Nach Zugabe von $NaJO_4$ und $Na_2S_2O_5$ erfolgte die photometrische Messung.
Da keine Extinktion gegenüber dem Leerwert gemessen wurde, kann man davon ausgehen, daß im Serum kein Octopamin oder Parahydroxybenzaldehyd vorhanden ist.

Da sich die Oxidation von Octopamin als zeitunabhängig erwies (von 5 - 15 min), und auch eine unterschiedliche Temperatur das Ergebnis nicht beeinflußte (0^{o} o. 37^{o} C), wurde die Oxidation über 5 min im Eiswasserbad durchgeführt, um die Verflüchtigung des Ammoniaks auch bei der nachfolgenden Extinktionsmessung möglichst gering zu halten.

Eichkurve

Mit ansteigenden Konzentrationen von Octopamin (1o - 5o n mol/ml) in 2 ml NH_4OH und nachfolgender Oxidation und Reduktion wurde eine Eichkurve erstellt. (s. Abb. 1). Da die Extinktionswerte gut reproduzierbar waren, und die Eichkurve bis zu hohen Octopaminkonzentrationen (- 1oo nmol/ml) linear verlief –schon Nagatusu und Udenfriend (24) beschrieben eine lineare Extinktion von 5 - 15o nmol/ml– konnte über einen Umrechnungsfaktor (x 45) die Parahydroxybenzaldehydkonzentration der Serumproben ermittelt und unter Berücksichtigung der anderen Umrechnungsgrößen die DBH-Aktivität in U/l angegeben werden.

Berechnung der Enzymaktivität

$$U/l = \frac{E \times 45 \times 2 \times 5o}{6o}$$

$$U/l = E \times 75$$

E : Extinktion

45: Umrechnungsfaktor aus der Eichkurve ermittelt:
2o nmol/l Octopamin hat eine Extinktion von
o,445 → 2o:o,445 = 44,9

2 : das Volumen des photometrisch gemessenen Ansatzes betrug 2 ml

5o: Umrechnung von 2o µl Serum auf 1 ml Serum

6 : Inkubationszeit von 6o min.

Zur Überprüfung der Linearität der Eichkurve wurden bei jedem Versuchsansatz nur noch 3 Standardproben als Doppelwerte mitgeführt (2o nmol/ml, 4o nmol/ml, und 6o nmol/ml.

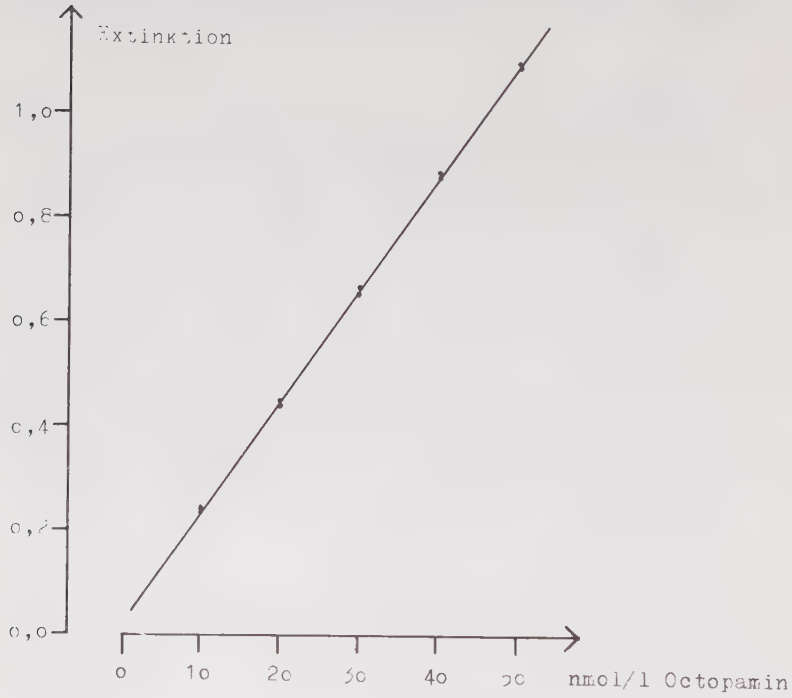


Abb.: 1 Eichkurve, Extinktionswerte bei steigenden Konzentrationen an Octopamin (bei 33o nm)

Qualitätskontrollen:

Präzision in Serie: (Intraassayvarianz) 1 Serum mit mittlerer Aktivität wurde 11x am gleichen Tag bestimmt. Bei einem Mittelwert von 22,o7 U/l lag die Standardabweichung bei 1,o6 U/l. Der Variationskoeffizient war also mit ± 4,8% genügend niedrig.

Präzision von Tag zu Tag: Ebenso niedrig war die Interassayvarianz. Sie betrug an 1o Tagen ermittelt ± 4,7%.

Da die DBH-Aktivität sehr stabil ist und bei Aufbewahren der Seren bei -18° C auch nach längerer Zeit keine Aktivitätsverluste auftreten, konnte ein tiefgefrorenes Mischserum mit bekannter Aktivität als Kontrollserum zur Qualitätskontrolle der Methode herangezogen werden. Die Aktivität dieses Poolserums wurde also bei jedem Versuch zusätzlich bestimmt. Bei Überschreiten des in der Überprüfung der Interassayvarianz festgelegten Kontrollbereiches $\bar{x} \pm 2s$, durch den für dieses Kontrollserum ermittelten Wert, wurde der Versuch wiederholt.
Sämtliche DBH-Aktivitätsangaben beruhen im Folgenden auf Doppelmessungen.

Sensivität: Die Empfindlichkeit der Methode wurde nicht gesondert überprüft. Mit den hier eingesetzten 2o µl Serum konnten aber bei allen Stoffwechselzuständen die Enzymaktivitäten genau von der Eichkurve abgelesen werden.

Spezifität: Wie erwähnt, reagiert die DBH nicht spezifisch mit Dopamin allein, sondern mit einer Reihe anderer Phenyläthylaminderivaten.

3. Ergebnisse

3.1. Tagesprofilmessungen und Messungen von Tag zu Tag der DBH-Aktivität bei Normalpersonen

Die DBH wird, wie eingangs beschrieben mit den Katecholaminen aus den praesynaptischen Vesikeln und aus dem Nebennierenmark freigesetzt. Da die Katecholaminausschüttung tagesrhythmischen und regulatorischen Schwankungen unterliegt, konnte man diese auch für die DBH-Aktivität annehmen. Vor der Ermittlung von Normalwerten und Normalbereichen war daher zu prüfen, ob eine Einzelmessung die DBH-Aktivität eines Probanden repräsentieren kann

3.1.1. Tagesprofilmessungen

Die Tagesprofilmessungen erfolgten an 5 Normalpersonen (Studenten 2: ♀ , 3: ♂ von 2o - 3o J.) zu 3 Abnahmezeiten: 8^{00} nüchtern, 13^{00} und 17^{00}.

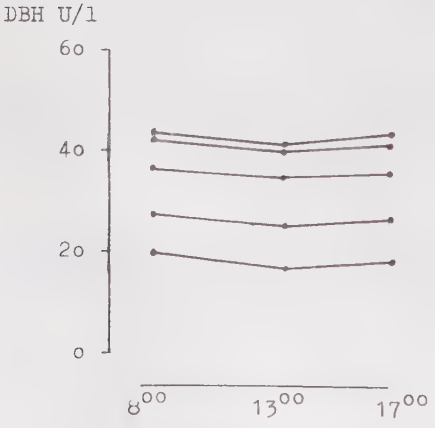


Abb. 2: Tagesprofilmessungen von Normalpersonen (n = 5)

Aus der Abbildung 2 ist bei allen 5 Tagesprofilen eine leichte Erniedrigung der DBH-Aktivität um 13^{00} ersichtlich. Diese Erniedrigung mag auf eine gewisse regulatorische Schwankung der DBH hinweisen, sie ist aber nicht signifikant. Es ergaben sich also keine wesentlichen tageszeitlichen Schwankungen der DBH-Aktivitäten.

3.1.2. Messungen von Tag zu Tag

Hierbei wurde die DBH-Aktivität an 5 aufeinanderfolgenden Tagen im Nüchternserum von 5 Normalpersonen bestimmt. (s. Abb. 3 u. Tab. 1).

Beide Untersuchungen gestatten, eine relative intra-individuelle Konstanz der DBH-Aktivität anzunehmen, und ermöglichen damit sogenannte Normalwerte und Normalbereiche durch eine Einzelmessung bei den jeweiligen Probanden zu erstellen.

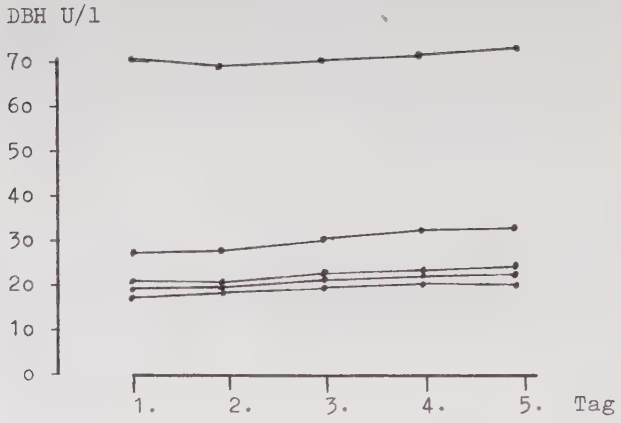


Abb. 3: 5 Tagemessungen der DBH-Aktivität im Nüchternserum von Normalpersonen (n = 5)

Proband:	1	2	3	4	5
DBH U/l $\bar{x}$	58,o	2o,1	19,3	17,1	25,8
$\pm$s	1,o	o,9	1,o	1,o	o,7

Tab. 1: Mittelwerte und Streuung der DBH-Aktivität gemessen über 5 Tage bei Normalpersonen (n=5)

3.2. DBH-Aktivität bei Normalpersonen

Um ein repräsentatives Vergleichskollektiv zu erstellen, wurde die DBH-Akivität bei 12o Normalpersonen bestimmt. Als Normalpersonen galten Patienten,die sich in ambulanter hausärztlicher Behandlung befanden, ohne daß sich bei ihnen Hinweise auf eine Schilddrüsenerkrankung fanden. In Abb. 4 sind die Häufigkeiten der DBH-Aktivität von 12o Normalpersonen dargestellt.
Es zeigt sich, daß eine Normalverteilung nicht besteht. Daher werden alle folgenden Daten als Mittelwerte und Bereiche unter Verzicht auf Ermittlung der Standardabweichungen angegeben. Signifikanzprüfungen von Unterschieden zwischen einzelnen Gruppen erfolgten mit dem Wilcoxon Rangsummentest.
Das Gesamtkollektiv wurde, um alters- und geschlechtsspezifische Unterschiede der DBH-Aktivität zu erfassen, in 4 Altersgruppen:

o-2o, 21-4o, 41-6o, 61-8o Jahre

mit jeweils 15 männlichen und 15 weiblichen Normalpersonen unterschieden.

Jahre/Geschlecht	DBH U/l $\bar{x}$	Bereiche
o - 2o/m	28,1	4,8 - 83,5
w	19,2	13,1 - 65,6
21 - 4o/m	38,7	14,2 - 1o3,o
w	45,7	8,1 - 74,o
41 - 6o/m	26,2	12,9 - 53,7
w	29,8	6,8 - 63,5
61 - 8o/m	25,1	14,6 - 77,4
w	36,o	11,9 - 1o8,8

Tab. 2: DBH-Aktivität $\bar{x}$ und Bereiche von jeweils 15 Normalpersonen unterschieden nach Alter und Geschlecht

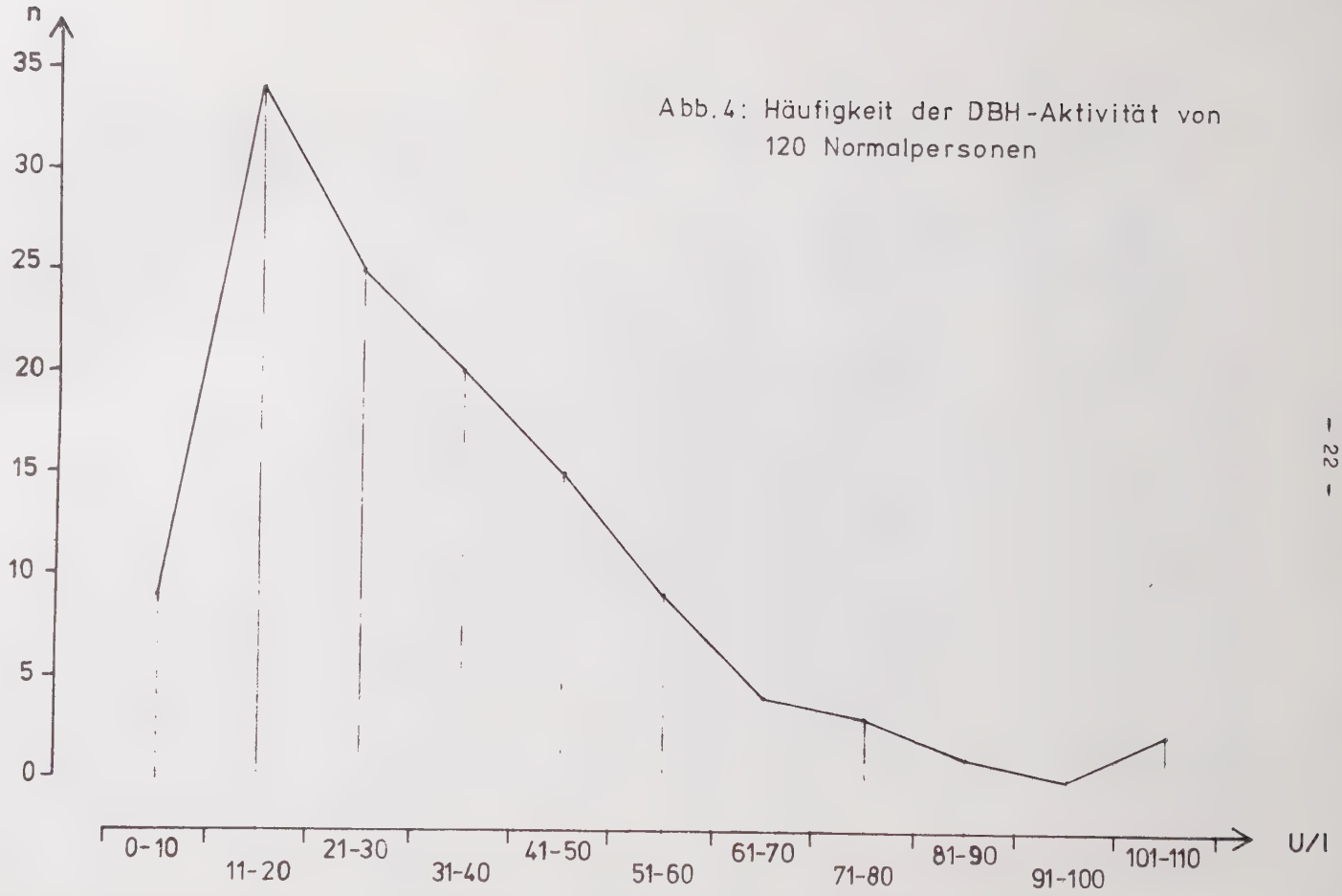


Abb. 4: Häufigkeit der DBH-Aktivität von 120 Normalpersonen

Die Abbildung 5 und die Tabelle 2 zeigen die Durchschnittswerte und Bereiche der DBH-Aktivität der 8 Untergruppen. Die Abbildung 6 und 7 berücksichtigen jeweils Alter und Geschlecht. Die weit sich überlappenden Bereiche und die im Verhältnis dazu gering voneinander abweichenden Mittelwerte bei der Alters- und Geschlechtsberücksichtigung, erlauben eine Alters- und Geschlechtsspezifität der DBH auszuschließen, was durch den Wilcoxon Rangsummentest bestätigt wurde. Für das Gesamtkollektiv liegt der Mittelwert bei 3o,9 U/l und der Bereich bei 4,8 - 1o8,8 U/l.

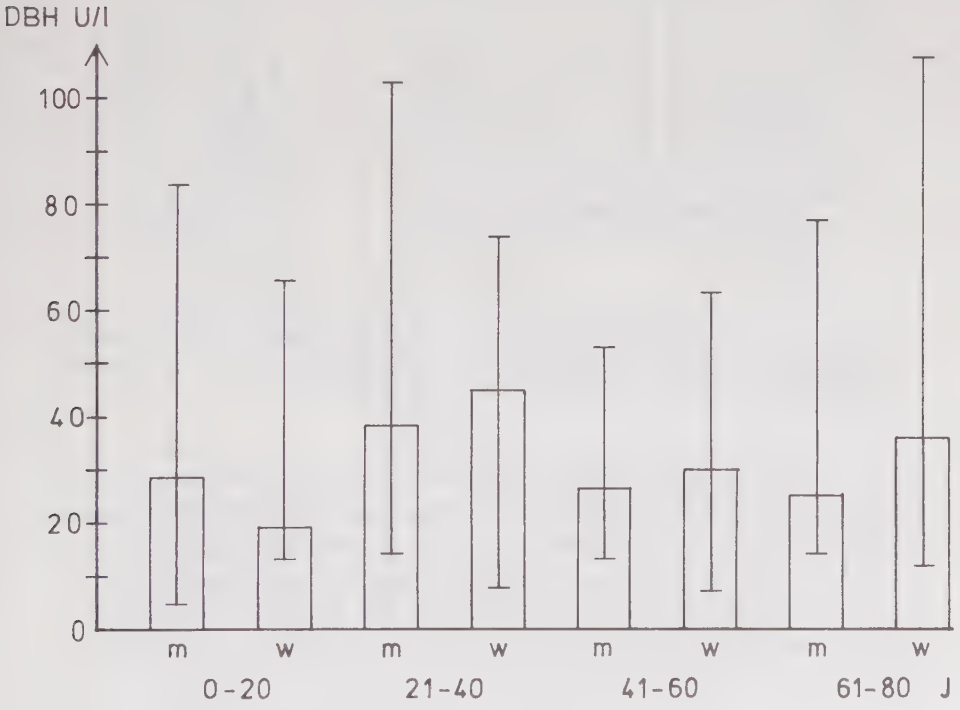


Abb. 5 DBH-Aktivität $\bar{x}$ und Bereiche von jeweils 15 Normalpersonen unterschieden nach Alter und Geschlecht

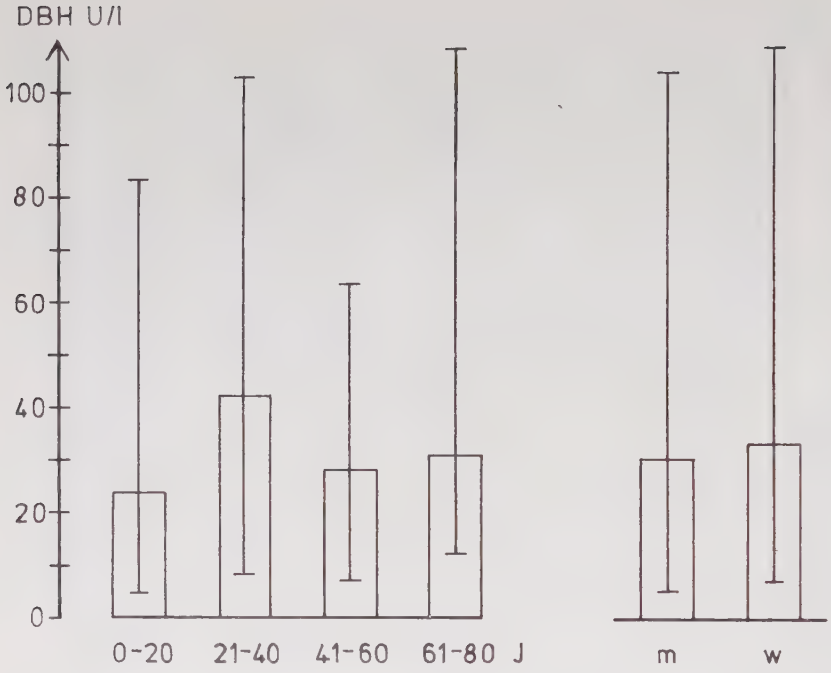


Abb. 6 und 7: DBH-Aktivität $\bar{x}$ und Bereiche von Normalpersonen unterschieden nach Altersgruppen von jeweils 15 ♂ + 15 ♀ bzw. unterschieden nach Geschlecht (n jeweils 60)

Die T_3 und T_4 Konzentrationen aller Normalpersonen lagen im Normbereich. Sie wiesen aber im Gegensatz zur DBH-Aktivität in Bezug auf die T_3 Konzentration eine Altersabhängigkeit auf. Wie in der Literatur beschrieben, nimmt die T_3 Konzentration mit zunehmendem Alter kontinuierlich ab und zwar auf grund einer verminderten Konversion von T_4 zu T_3 zugunsten des stoffwechselinaktiven reverse T_3 (rT_3)(32).

3.3.1. DBH-Aktivität bei Hyper- und Hypothyreosen

Es wurde die DBH-Aktivität im Serum von 48 hyper- und 16 hypothyreoten Patienten bestimmt.
Bei allen Patienten lag das klinische Bild einer Hyper- bzw. Hypothyreose vor, und alle wiesen im Serum eine erhöhte bzw. erniedrigte Schilddrüsenhormonkonzentration auf. (s.Tab.3)

	Hyper-	Hypothyreosen
T_3 ng/dl $\bar{x}$	451	28
Bereich	216 - 2399	o - 83
T_4 µg/dl $\bar{x}$	14,1	4,4
Bereich	3,7 - 35,9	o - 11,3
DBH U/l $\bar{x}$	4o,o	35,8
Bereich	1,7 - 96,o	o - 113,4

Tab. 3 Mittelwerte und Bereiche der T_3 und T_4 Konzentration und der DBH-Aktivität von Hyper- und Hypothyreosepatienten

Die DBH-Aktivitätsmessung ergab für die Hyperthyreosepatienten einen Durchschnittswert von 4o,o U/l und für die Hypothyreosepatienten einen Durchschnittswert von 35,8 U/l. Eine Überprüfung der Differenzen der DBH-Aktivität zwischen Eu- Hyper- und Hypothyreosen mit Hilfe des Wilcoxon Rangsummentest ergab keinen Hinweis auf signifikante Unterschiede - graphisch dargestellt anhand der sehr nahe zusammenliegenden Mittelwerte und den weit sich überlappenden Bereichen in Abb. 8.

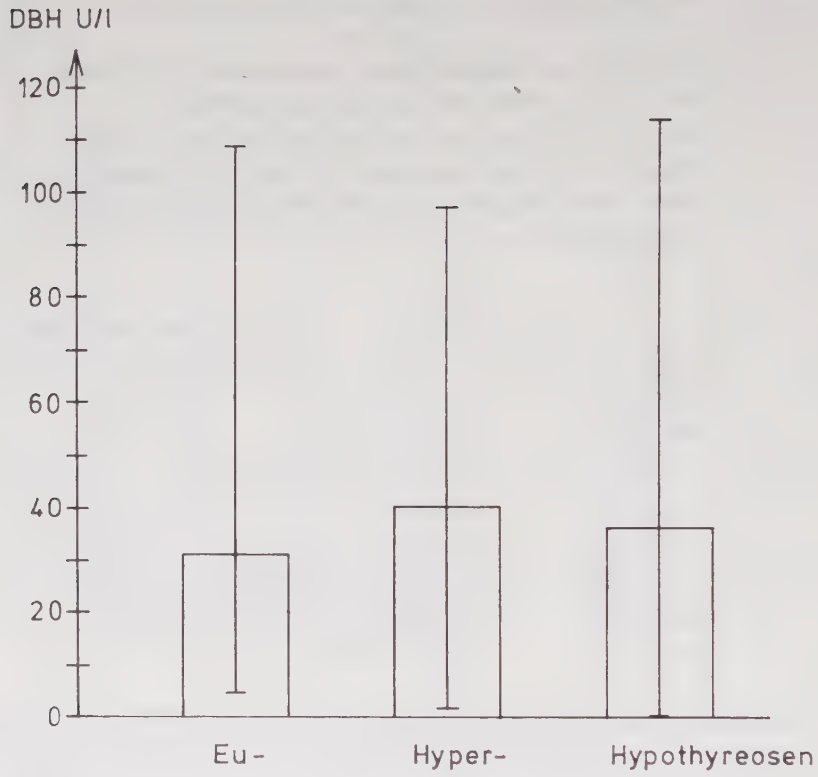


Abb. 8 DBH-Aktivität $\bar{x}$ und Bereiche von Eu-, Hyper- und Hypothyreosen

Um die intraindividuelle Beziehung zwischen Hormonkonzentration und Enzymaktivität darzustellen, wurden in den Abbildungen 9 und 1o die DBH-Aktivität aller Eu-, Hypo- und Hyperthyreosen gegen die Konzentration von T_3 (Abb.9) und T_4 (Abb.1o) aufgetragen.
Beide Abbildungen zeigen eine von der Höhe der Hormonkonzentration unabhängige Streuung der DBH-Aktivität.

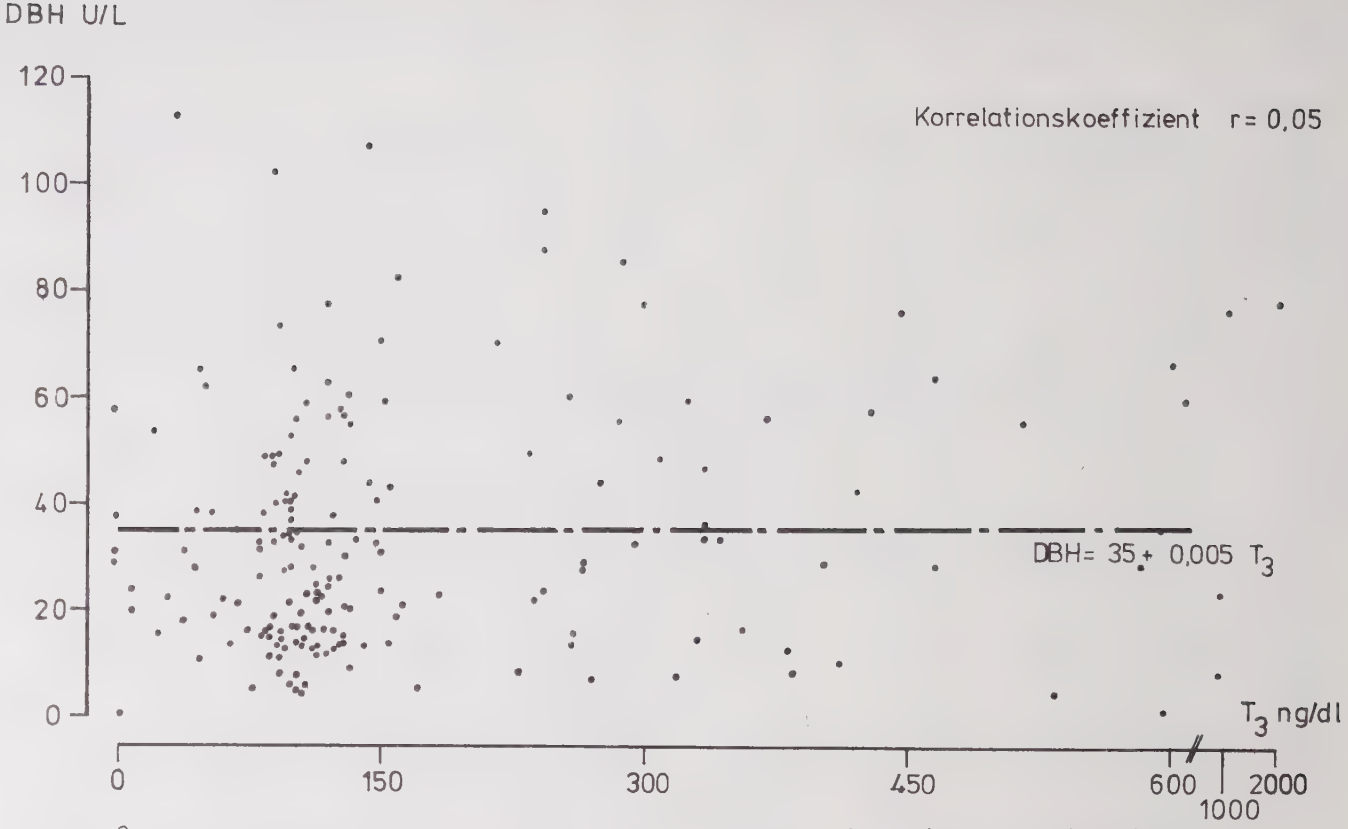


Abb. 9 : DBH-Aktivität und T_3 Serumkonzentration von Eu- (n=120), Hyper- (n=48) und Hypothyreosen (n=16)

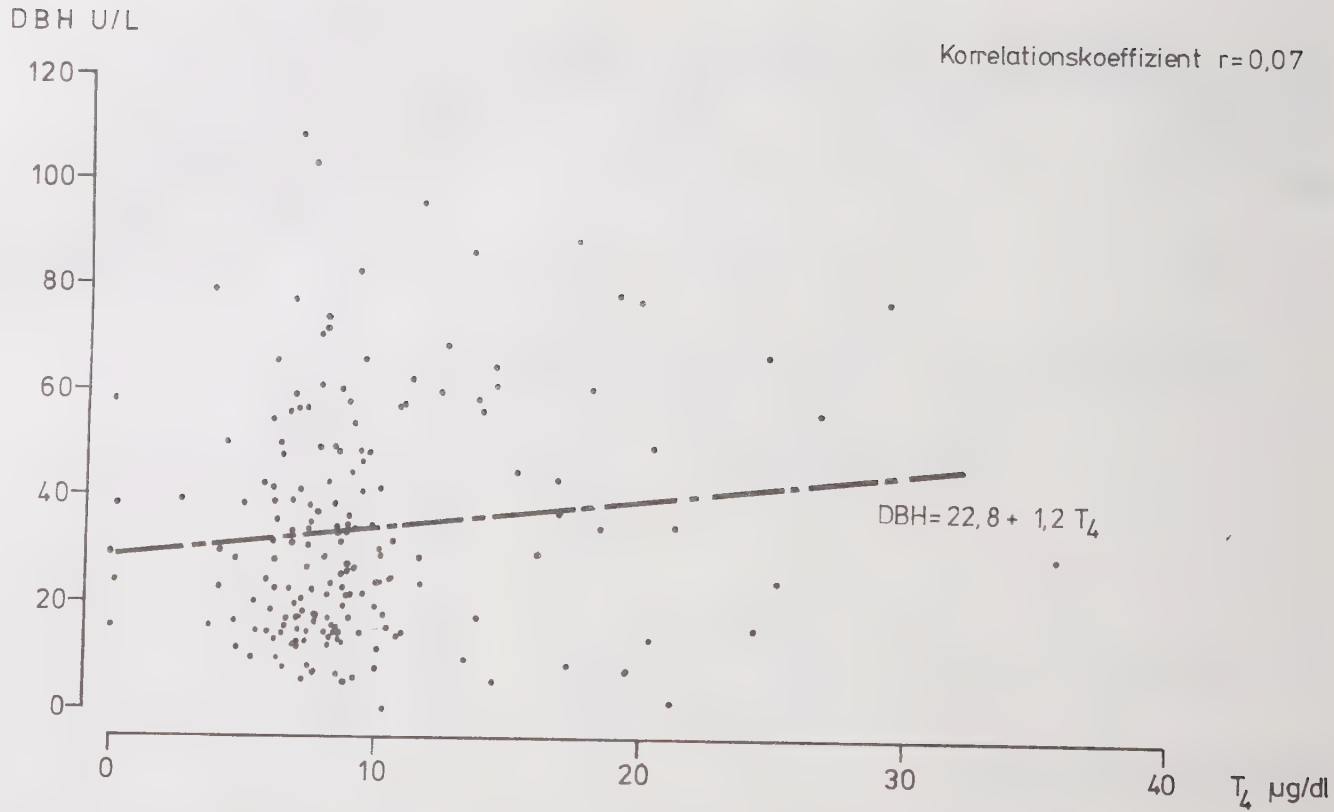


Abb.10 : DBH-Aktivität und T_4 Serumkonzentration von Eu-(n=120), Hyper- (n=48) und Hypothyreosen (n=16)

3.3.2. Verlaufsmessungen der DBH-Aktivität bei Hyper- und Hypothyreosepatienten - 2 Langzeitverläufe -

Die vorausgegangenen Untersuchungen zeigen keine feste Beziehung zwischen schilddrüsenhormonabhängiger Stoffwechsellage und Enzymaktivität der DBH auf. Daher ergibt sich die Frage ob überhaupt eine Beeinflussung der DBH-Aktivität von den Schilddrüsenhormonen ausgeht, das heißt ob eine Änderung der Stoffwechsellage eventuell mit einer vergleichbaren Veränderung der Enzymaktivität einhergeht.
In diesem Sinne wurde die DBH-Aktivität zusammen mit den unter der Behandlung sich normalisierenden T_3- und T_4-Konzentrationen hyper- und hypothyreoter Patienten bestimmt.
Bei der Mehrzahl der Patienten wurden z.T. erhebliche Aktivitätsänderungen der DBH gemessen, die aber weder in Bezug auf die T_3 noch in Bezug auf die T_4 Konzentration als charakteristisch angesehen werden können (s.Abb. 11 und 12). Die Aktivitätsänderungen sind vielmehr als Schwankungen der Enzymaktivität um einen Mittelwert aufzufassen, was besaonders deutlich in den Darstellungen der Langzeitverläufe zum Ausdruck kommt. In beiden Fällen wurde nach Normalisierung der Stoffwechsellage eine Enzymaktivität gemessen, die nur in geringem Maße von dem Ausgangswert abweicht (Abb. 13 und 14).
Mit dieser Interpretation wird auch verständlich, daß die Darstellungen, die nur wenige Meßwerte berücksichtigen, (Abb. 11 und 12) mehr oder weniger zufällige Ausschnitte des DBH-Verhaltens unter der Therapie zeigen, so daß z.B. bei Vorliegen von nur 2 Meßwerten (wie bei den Patienten 2,5,7) eine deutliche Schwankung u.U. nicht erfaßt wird, sie aber deswegen für diese Patienten auch nicht ausgeschlossen werden kann. Um so mehr zeigen aber gerade diese Fälle, daß sich die DBH-Aktivität auch bei Normalisierung der Schilddrüsenhormonstoffwechsellage nicht grundsätztlich ändert.

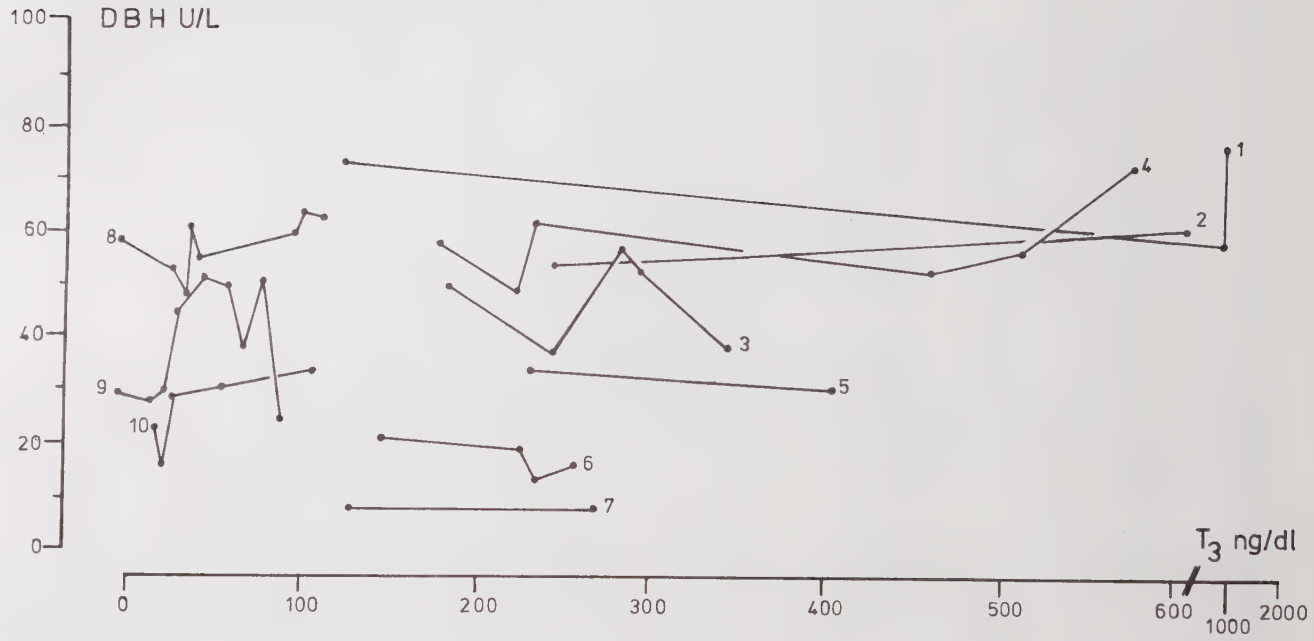


Abb. 11 : Verlaufsmessung der DBH-Aktivität und T_3 Serumkonzentration unter der Therapie von 7 Hyperthyreosepatienten: 1-7 und 3 Hypothyreosepatienten: 8-1o

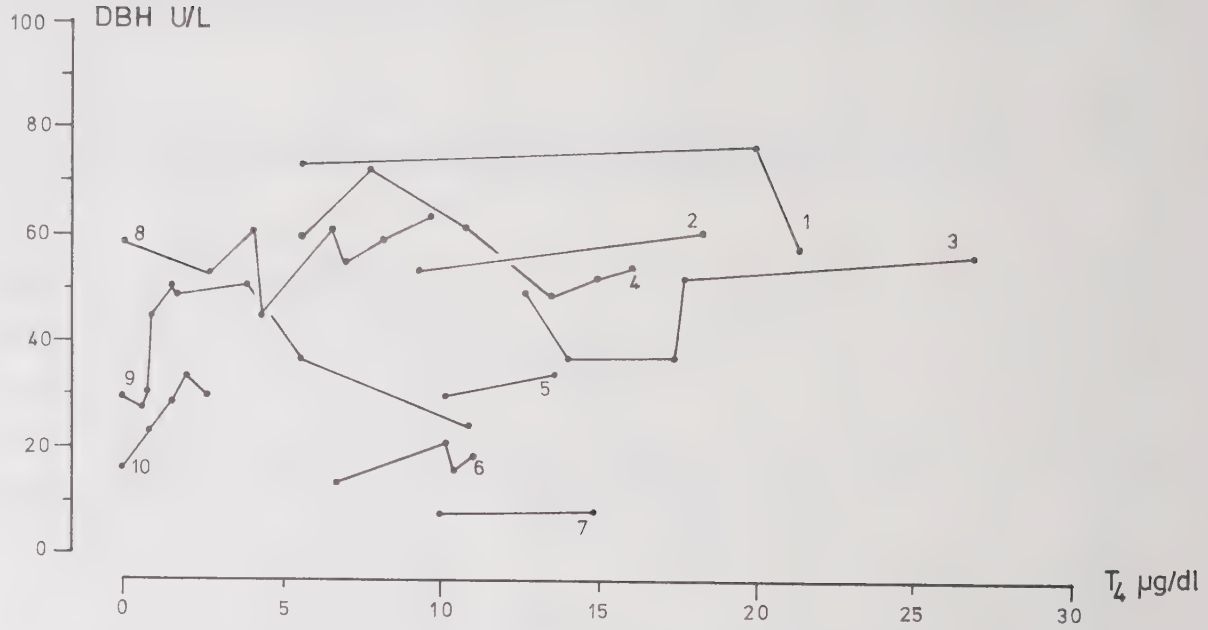


Abb. 12 : Verlaufsmessung der DBH-Aktivität und T_4 Serumkonzentration unter der Therapie von 7 Hyperthyreosepatienten: 1-7 und 3 Hypothyreosepatienten: 8-10

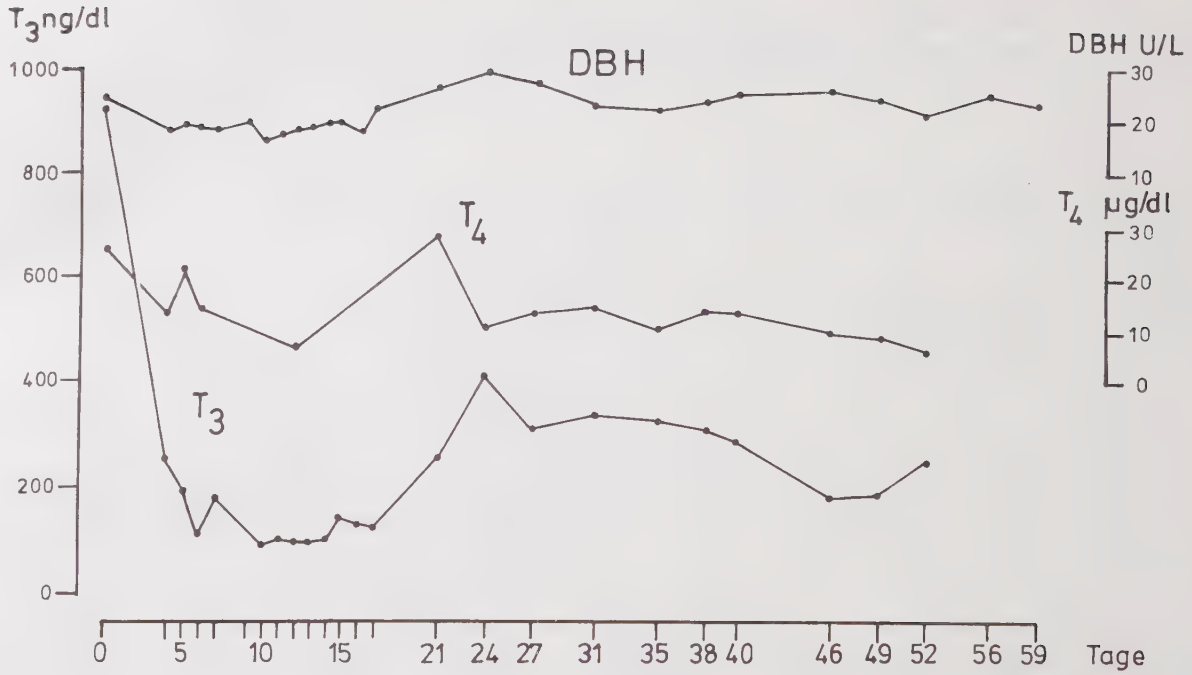


Abb. 13 : Langzeitverlaufsmessung (L_2) der DBH-Aktivität und der T_3 und T_4 Serumkonzentration unter der Behandlung eines Hyperthyreosepatienten

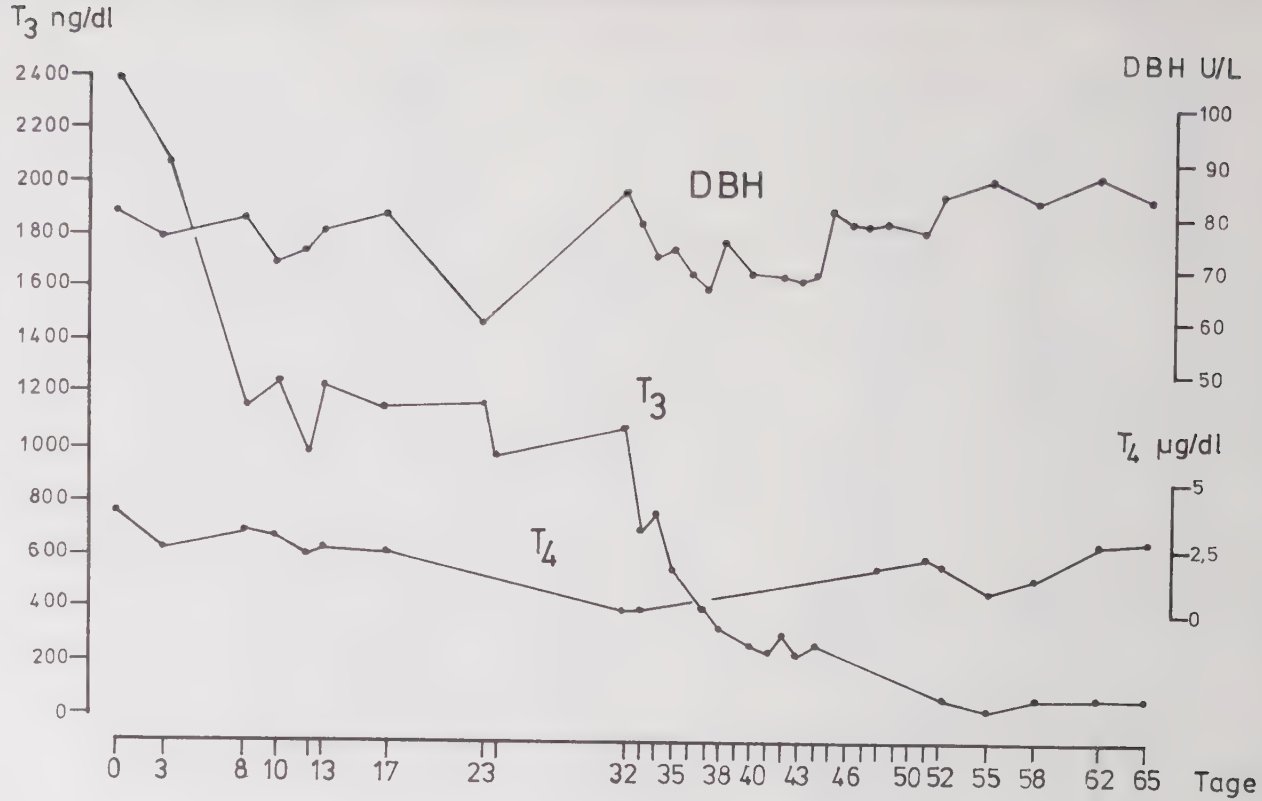


Abb. 14 : Langzeitverlaufsmessung (L_1) der DBH-Aktivität und der T_3 und T_4 Serumkonzentration unter der Behandlung eines Patienten mit einer T_3 Hyperthyreose

3.4. DBH-Aktivität im Serum von Normalpersonen bei täglicher Einnahme von 1oo µg LT_3

Obwohl man eine Abhängigkeit der Aktivität der DBH von der Stoffwechsellage mit großer Wahrscheinlichkeit ausschließen kann, wurde die Frage nach einer eventuellen Beeinflussung der DBH-Aktivität durch die Schilddrüsenhomone nicht definitiv beantwortet, da die Aktivitätsschwankungen bei der vorrausgegangenen Untersuchung doch auf eine Beeinflussung der Enzymaktivität hindeuten könnten.
Im folgenden wurde dieser Frage noch einmal unter definierten Versuchsbedingungen nachgegangen, in dem die DBH bei 6 Normalpersonen unter täglicher Einnahme von 1oo µg LT_3 verfolgt wurde.

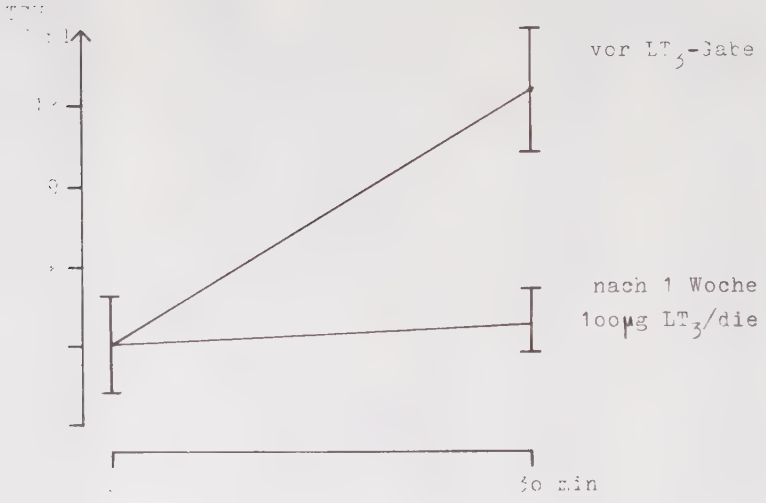


Abb. 15 TRH-Test: vor und nach 1 Woche 1oo µg LT_3/die (n=6, $\bar{x} \pm$ SEM)

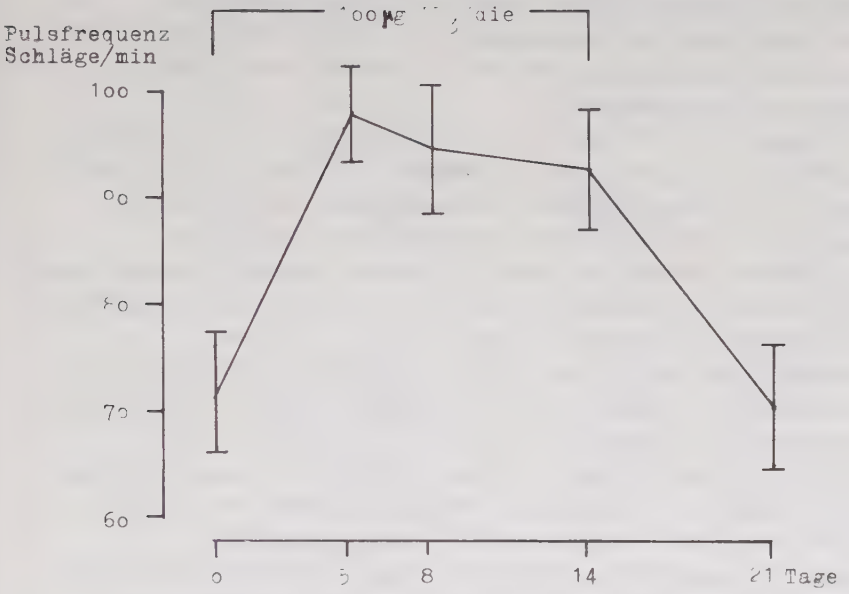


Abb.16 : Pulsfrequenzverhalten von Normalpersonen (n=6) unter 100 µg LT_3/die über 14 Tage und nach Absetzen der Medikation ($\bar{x} \pm$ SEM)

- Der TRH Test wurde vor der Medikation und 1 Woche nach Einnahme von 100 µg LT_3/die durchgeführt. Der ausbleibende Anstieg des TSH bei der Wiederholung beweist das Vorliegen einer Suppression der TSH Sekretion (s.Abb.15)
- Zudem war bei allen Testpersonen unter der LT_3 Einnahme ein typischer Pulsfrequenzanstieg zu beobachten (s. Abb. 16)
- und als Zeichen einer durch die hohen T_3 Konzentrationen supprimierten Schilddrüsenfunktion, wurden kontinuierlich sinkenden T_4 Konzentrationen gemessen (s. Abb. 17)

Die täglichen T_3-, T_4- Konzentrationsbestimmungen und DBH-Aktivitätsmessungen erfolgten in festgesetzten Abständen zur Tabletteneinahme. An den T_3- Konzentrationen zeigten sich aufgrund der kurzen Halbwertszeit große tägliche Schwankungen.
2 Stunden nach Tabletteneinahme erreichte die T_3- Konzentration ihr Maximum: im Durchschnitt 56o ng/dl, eine rund 5oo% ige Steigerung ihres Ausgangswertes von 11o ng/dl, der nach 24 Stunden wieder erreicht war. (s.Abb.18)
Die DBH-Aktivität reagierte auf diesen starken Schilddrüsenhormonanstieg weder mit einer vergleichbar parallelen noch verzögerten Aktivitätsänderung.
Ebenso wurde keine wesentliche Änderung der DBH-Aktivität während den 14 Tagen der LT_3 Einnahme und nach Absetzen der Medikation beobachtet. (s.Abb.17)
Wegen der oben erwähnten großen täglichen Schwankungen des T_3 während der Einnahme von 1oo µg LT_3 wurde in diesem Zusammenhang die T_3-Konzentration nicht aufgeführt.
Eine Einflußnahme der absoluten Höhe der Schilddrüsennormon-Konzentration oder deren Anderung auf die DBH-Aktivität erscheint mit diesen Untersuchungen als ausgeschlossen.

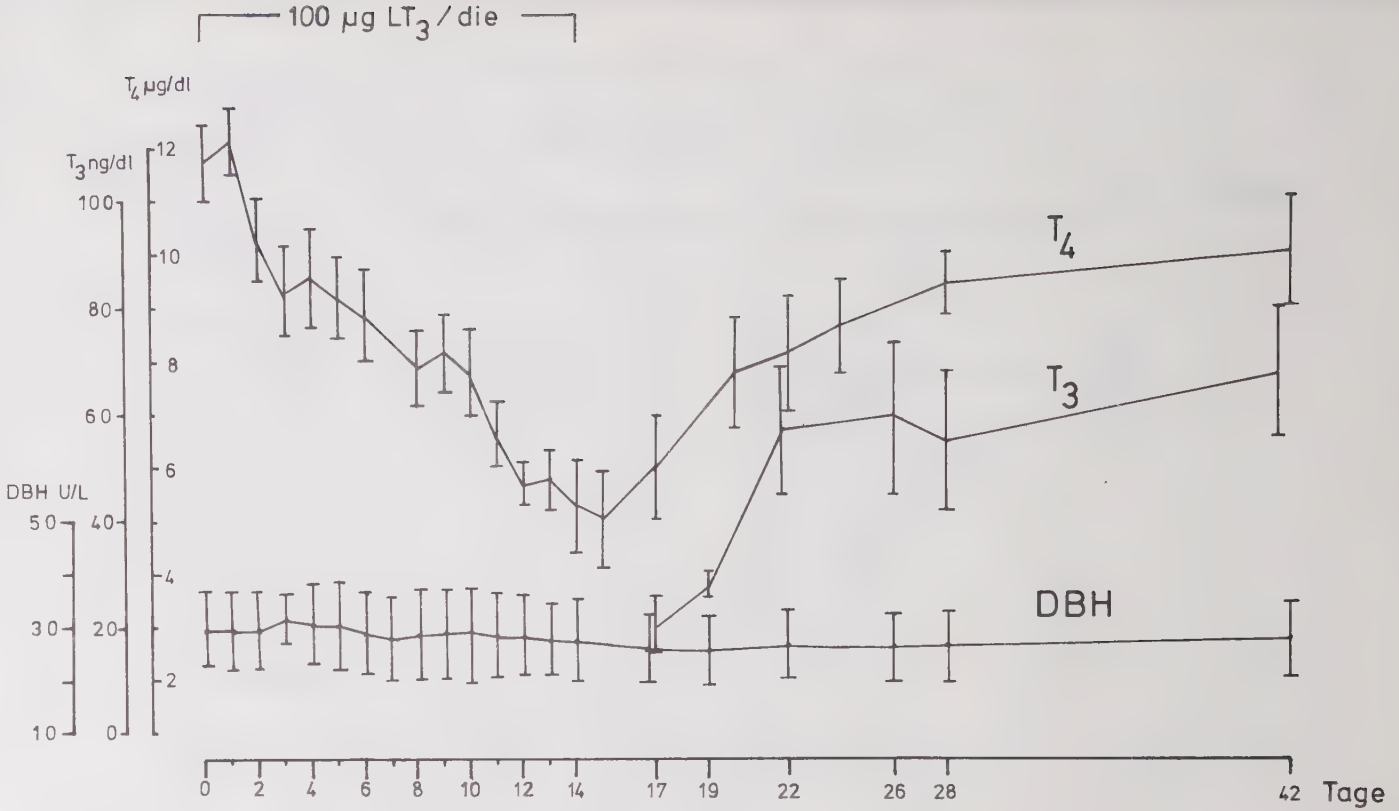


Abb. 17 : DBH-Aktivität und T_3-T_4 Serumkonzentration von 5 Normalpersonen unter 100 µg LT_3/die - über 14 Tage und nach Absetzen der Medikation ($\bar{x} \pm SEM$)

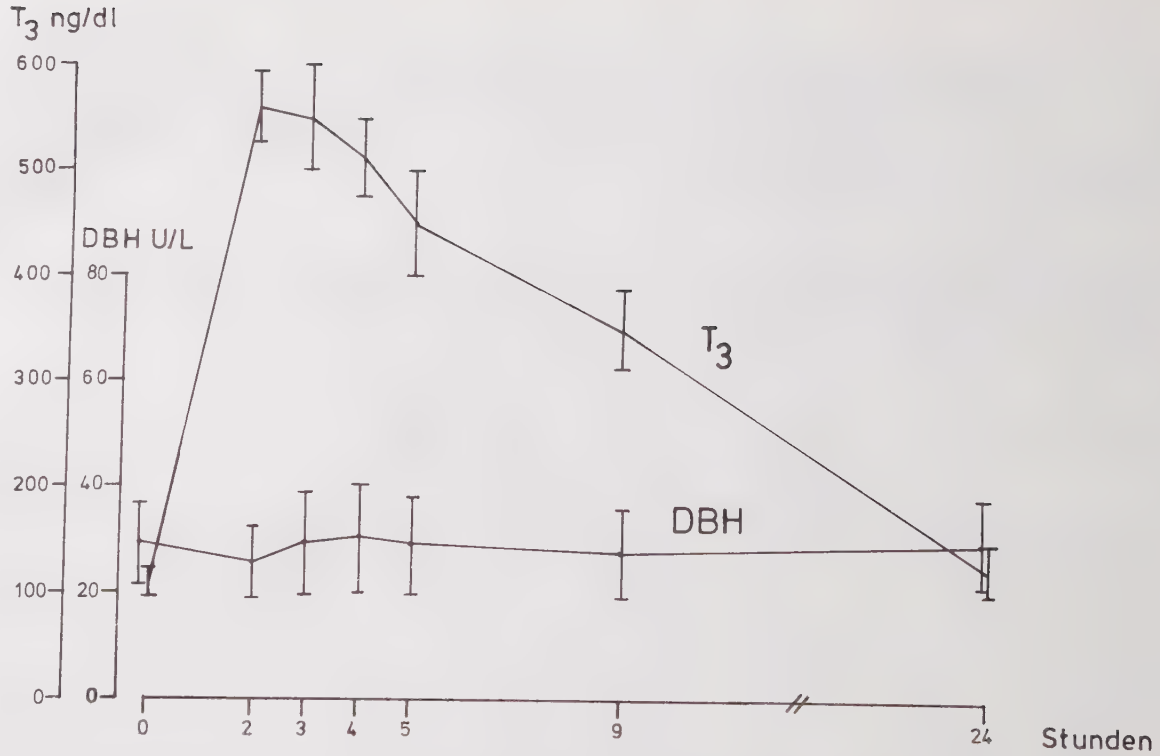


Abb. 18 : DBH-Aktivität und T_3 Serumkonzentration bei 5 Normalpersonen in Abhängigkeit von
- der Zeit nach oraler Zufuhr von 1oo µg LT_3 ($\bar{x} \pm SEM$)

4. Diskussion

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen konnten die von Noth et al (26) und Nishizawa et al (25) beschriebene Erniedrigung der DBH-Aktivität bei hyperthyreoter Stoffwechsellage nicht bestätigen.
Zudem wurde unter der Therapie von Hyperthyreosepatienten kein Ansteigen der Enzymaktivität beobachtet.

Als Erklärung für diese unterschiedlichen Ergebnisse kann folgendes angeführt werden:
Nishizawa erhielt bei 23 Normalpersonen eine Varianz von 3,5%, Noth bei 41 Normalpersonen eine vom 1o%, die vorliegende Arbeit ermittelte bei 12o Normalpersonen eine von 6o% und Fujiata (7) stellte bei 153 Normalpersonen eine Varianz von 72% fest.
Diese unterschiedlichen Varianzen legen die Vermutung nahe, daß der DBH-Aktivität im Serum keine Normalverteilung zugrunde liegt.
Schon Schanberg et al (34) beschrieben eine nicht normale Verteilung der DBH-Aktivität im Serum. Bei 82 scheinbar gesunden Probanden hatten 62 (76%) Werte unter 35 U/l und 13 (16%) hatten Enzymaktivitäten von durchschnittlich co U/l.
So ist wahrscheinlich, daß die beiden Autoren (Noth, Nishizawa) aufgrund eines zu kleinen Normalkollektivs nicht die ganze Streubreite des Enzyms erfaßt haben, fälschlicherweise eine Normalverteilung annahmen und dann zufällig niedrige Werte bei Hyperthyreosen als Abweichung von der Norm interpretierten. Nishizawa et al (25) der für die Aufstellung von Normalwerten die DBH-Aktivität bei nur 23 Probanden bestimmte, stellte sogar auch bei Hyperthyreosen signifikant abweichende - höhere - DBH-Aktivitäten fest, während Noth kaum voneinander abweichende DBH-Aktivitäten bei Normalpersonen und Hypothyreosen beschrieb.

Auch ein Ansteigen der DBH-Aktivität unter der Therapie von hyperthyreoten Patienten (Noth, Nishizawa), was Noth zudem nicht bei allen Patienten beobachtete, konnte in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden. Vielleicht haben die oben genannten Autoren aufgrund weniger DBH-Aktivitätsmessungen diese DBH-Aktivitätsänderungen nicht als Schwankungen erkannt und so als Ansteigen fehlgedeutet.

Eine direkte Einflußnahme der Schilddrüsenhormone T_3 und T_4 auf die DBH-Aktivität scheint anhand dieser Untersuchungen ausgeschlossen.
Weinshilboum und Axelrod stellten 3 Wochen nach Thyreoidektomie, also bei einem völligen Mangel an T_3 und T_4 keine Veränderung der adrenalen DBH-Konzentration fest (44).
Somit konnte auch die Annahme einer bei Hyperthyreose verminderten sympathischen Aktivität aufgrund erniedrigter DBH-Aktivitätswerte (Noth, 26), die auch im Gegensatz zum klinischen Erscheinungsbild steht, nicht erhärtet werden: zumal in der Literatur widersprüchliche Angaben hinsichtlich der Serumkatecholaminkonzentration gemacht werden und sowohl von erhöhten (38) als auch von erniedrigten (36) Katecholaminkonzentrationen berichtet wird.
Also scheinen Änderungen weder der DBH-Aktivität noch der Katecholaminkonzentration im Serum für eine bestimmte Schilddrüsenhormonstoffwechsellage charakteristisch zu sein.

Es stellt sich die Frage, welche Beziehung überhaupt zwischen DBH- und sympathischer Aktivität besteht bzw. welcher Aussagewert der DBH-Aktivität im Serum zuzuschreiben ist.
Die DBH wird zusammen mit den Katecholaminen aus den präsynaptischen Vesikeln bzw. chromaffinen Granula freigesetzt und somit im Blut nachweisbar (4o). Ihre eigentliche Aktivität entwickelt die DBH in den Vesikeln des sympathischen Nervensystems, also in diesem ganz speziellem Milieu.
Da die in vitro Messung der Enzymaktivität des Serums unter optimalen Bedingungen - ph 5, Ausschaltung der

endogenen Inhibitoren, Substratsättigung etc. - stattfindet, kann anhand dieser Bestimmungsmethode nur eine Aussage über die augenblickliche Konzentration der DBH im Serum möglich sein und nicht über die Aktivität und Effektivität des Enzyms an seinem eigentlichen Wirkungsort. Die DBH-Aktivität in den Vesikeln ist aber, wie oben beschrieben, von vielen Faktoren abhängig: von der Cu-Konzentration, von der An- bzw. Abwesenheit endogener Inhibotoren, vom Gehalt an Ascorbinsäure und Sauerstoff. So wird deutlich, daß aus der Aktivitätsmessung im Serum nicht ohne weiteres Rückschlüsse auf die Aktivität in den Vesikeln und damit auf die Syntheserate von Noradrenalin und Adrenalin erlaubt sind. Es ist demnach vorstellbar, daß individuell unterschiedliche Konzentrationen an Aktivatoren und Inhibitoren in den Vesikeln die DBH--Aktivität und damit die Syntheserate der Katecholamine beeinflussen können, ohne daß es dabei zu einer geänderten Enzymfreisetzung ins Serum kommt.

Horwitz (15) beschreibt, daß Personen mit einer niedrigen Serum-DBH-Aktivität die gleiche Umsatzrate eines zugeführten synthetischen Substrates der DBH (Paredrin=Hydroxyamphetamin) aufwiesen, wie Vergleichspersonen mit höheren Serumenzymaktivitäten.

Weiterhin konnte keine Beziehung zwischen Serumkatecholaminkonzentration und DBH-Aktivität festgestellt werden, und vermehrte Ausschüttung von Katecholaminen in Stressituationen (-1200%) ging nicht mit einem vergleichbaren DBH-Aktivitätsanstieg einher (27, 42).

Mehrere Autoren beschrieben, daß weder eine Korrelation zwischen systolischem und diastolischem Blutdruck und der DBH-Aktivität, noch eine charakteristische Veränderung der DBH-Aktivität bei Hochdrucksenkung beobachtet werden konnte (16, 43, 13, 1, 18).

Stone et al (37) fanden bei Phäochromozytompatienten, trotz

sehr stark erhöhter Urinkatecholaminausscheidungen, durchschnittliche DBH-Aktivitäten und stellten bei nur einem Patienten ein deutliches Absinken der DBH-Aktivität postoperativ fest. Daraus folgerten sie, daß nur ein Teil der Phäochromozytome das Enzym sezernieren, was von Aunis bestätigt wird (2,3).
Von Rockson et al wird allerdings auch ein Fall von extrem hoher DBH-Aktivität bei einem Phäochromozytom beschrieben (32) so daß die DBH-Aktivitätsmessung in einigen Fällen eventuell einen Hinweis auf das Vorliegen eines Phäochromozytoms geben kann, niedrige DBH-Aktivitätswerte aber einen Ausschluß nicht erlauben.

Aus den obigen Erläuterungen geht hervor, daß die DBH-Aktivität im Serum in keiner Weise mit der Katecholaminschüttung korreliert und nicht als Indikator für die sympathische Aktivität verwendet werden kann.

Die Frage bleibt, wie der große Streubereich der Enzymaktivität bei Normalpersonen in der vorliegenden Arbeit zu erklären ist. Die unter optimalen Test-Bedingungen in vitro gemessene Aktivität entspricht weitgehend der Konzentration des Enzyms im Serum. Die momentane Enzymkonzentration ist von folgenden Faktoren abhängig:

1. Enzymproduktion und Freisetzungsrate aus den präsynaptischen Vesikeln bzw. chromaffinen Granula im NNM
2. Verteilung im Extrazellulärraum
3. Halbwertszeit (Elimination)

Über die Elimination von Enzymen herrscht noch weitgehende Unklarheit. Eine Ausscheidung über die Niere, wie sie von Enzymen unter einem MG von 60.000 berichtet wird (35),

scheidet für die DBH wegen des weit höheren MG unter normalen Bedingungen aus. Nagatsu und Udenfriend stellten keine Enzymaktivität im Urin fest (24).
Daher kommt für die DBH eine von anderen Enzymen bekannte Ausscheidung über die Galle (35) und ein Abbau im Proteinstoffwechsel als Eliminationsweg in Betracht.
So könnte man die Schwankungen der DBH-Aktivität unter der Therapie von hyperthyreoten und hypothyreoten Patienten eventuell als Ausdruck der Änderung von Verteilungsraum und Enzymelimination ohne notwendige systematische Beeinflussung dieser Größe durch die aktuelle schilddrüsenhormonabhängige Stoffwechsellage erklären.

Als Erklärung für die extrem unterschiedlichen Enzymaktivitäten bei Normalpersonen kommen aber sowohl der Elimination als auch dem Verteilungsraum wohl eher eine untergeordnete Bedeutung zu.

Der große Streubereich der DBH-Aktivität im Serum, der in keiner Weise mit dem anderer Enzyme vergleichbar ist, kann am ehesten mit einer individuell unterschiedlichen DBH-Produktion bzw. Freisetzungsrate erklärt werden.

Inzwischen mehren sich nämlich die Hinweise in der Literatur darauf, daß die unterschiedlichen Enzymaktivitäten im Serum von Normalpersonen Folge genetisch determinierter unterschiedlicher Produktionsraten sind.
Zwillingsstudien (19,22) finden eine nahezu identische DBH-Aktivität bei eineiigen und sehr ähnliche DBH-Aktivität bei zweieiigen Zwillingen.
Weinshilboum (46) postuliert aufgrund seiner Untersuchungen an 841 Kindern, 277 Erwachsenen und 114 Verwandten

der Kinder, die sehr niedrige DBH-Werte im Serum aufwiesen, eine autosomal rezessive Vererbung der DBH-Aktivität. Diese - soweit bekannt - noch unbestrittene Hypothese einer genetischen Determination der DBH-Aktivität bietet die bisher naheliegendste Erklärung für die weiten interindividuellen Streubereiche, die große intraindividuelle Konstanz und die fehlende Korrelation zwischen DBH-Aktivität und Katecholaminproduktion.

Somit wird die DBH wahrscheinlich in einer genetisch festgesetzten Menge produziert, woraus eine außerordentlich große Variationsbreite der Serum-Enzymaktivität schon bei gesunden Probanden resultiert. In diesem Rahmen sind eventuelle Anderungen der Enzymaktivität infolge unterschiedlicher Verfügbarkeit von Schilddrüsenhormonen im peripheren Gewebe (Anderung von Verteilungsraum und Enzymelimination) - von so geringem Ausmaß, daß die Messung der Enzymaktivität im Serum nicht als Maß der Wirkung von Schilddrüsenhormonen und somit nicht als Diagnostikum für Hyper- und Hypothyreose herangezogen werden kann.

Leider erwies sich die Hoffnung,mit der Messung der DBH-Aktivität einen direkten Parameter für die Schilddrüsenhormon-Effekte auf zellulärer Ebene zu erhalten, als falsch. Angesichts der Nichtberücksichtigung der großen Streubereiche der DBH-Aktivität im Serum von Normalpersonen müssen die von Noth (26) und Nishizawa (25) mitgeteilten Ergebnisse als unzutreffend bezeichnet werden.

5. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Untersuchung war zu überpüfen, ob - wie von anderen Autoren beschrieben - die Messung der Aktivität des Enzyms Dopamin-ß-hydroxylase (DBH) im Serum einen verläßlichen, diagnostisch verwertbaren Parameter für die Wirkung von Schilddrüsenhormonen auf der zellulären Ebene des menschlichen Organismus darstellt.

Nach Aufbau der Methodik und ausreichender Qualitätssicherung wurden die DBH-Aktivitäten im Serum von 12o euthyreoten (=Normalpersonen), 48 hyper- und 16 hypothyreoten Patienten ermittelt. Die Aktivität der DBH im Normalkollektiv war nicht normal sondern eher logarithmisch verteilt mit einem hohen Anteil hoher Werte. Geschlechts- oder Altersunterschiede im Normalkollektiv fanden sich ebenso wenig wie Differenzen zwischen Eu- und Hyper- bzw. Hypothyreosen. Eine Beeinflussung der Enzymaktivität im Serum durch Induktion einer artifiziellen Hyperthyreose trat nicht auf.
Zwischen den individuellen Schilddrüsenhormonkonzentrationen und den entsprechenden Enzymaktivitäten zeigte sich keine signifikante Abhängigkeit.
Auf grund dieser Untersuchungen kann die Messung der Dopamin-ß-hydroxylaseaktivität im Serum nicht als direkter Parameter für die Schilddrüsenhormonwirkung an den peripheren Geweben angesehen werden. Gegenteiligen Mitteilungen anderer Autoren liegen zu kleine Kollektive zu grunde, die die starke physiologische Streuung der Werte in einem größeren Normalkollektiv nicht berücksichtigen.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. AOKI,K., K. TAZUMI, T.YISHIDA, S.KATO, J. SATO, K. TAKIKAWA

Serum dopamine-ß-hydroxylase activity in essential hypertension

Clin.Sci.Mol.Med. 51 Suppl. 3: 465-467 (1976)

2. AUNIS,D., M.BOUCLIER

Comparative study of plasma dopamine-ß-hydroxylase activities in noradrenaline-secreting and adrenaline-secreting phaeochromocytoma

Clin.Exo. Pharmacol.Physiol. 4 (4): 359-363 (1977)

3. AUNIS,D., M.T.MIRAS-PORTUGAL, G.COQUILLAT, J.M. WARTER, P.MANDEL

Plasma dopamine-ß-hydroxylase in a noradrenaline--secreting phaeochromocytoma

Clin.Chim.Acta 7o (3): 455-458 (1976

4. BUDDECKE,E.

Grundriß der Biochemie

Walter de Gruyter Verlag, Berlin S. 299-3o5 (197o)

5. CREVELING,C.R., B.Witkop, S.UDENFRIEND

Substrates and inhibitors of dopamine-ß-hydroxylase

Biochem.Biophys.Acta 64: 125-134 (1962)

6. ESHEL,Y., A.D.KORCZYN, R.RABINOWITZ, S.GITTER

The stability of dopamine-ß-hydroxylase activity in blood samoles

Clin.Chim.Acta 82 (3): 291-292 (1978)

7. FUJITA, K., K.MARUTA, R.FERADAIRA, H.BEPPU, M. IKEGAME, T.NAGATSU, T.KATO

Normal values for serum dopamine-ß-hydroxylase activity

Clin.Chem. 23 (1o): 1947-1948 (1977)

8. FRIEDMANN,S., S.KAUFMANN

3-4 dihydroxy-phenyl-ethylamine-ß-hydroxylase: physical properties, copper content and role of copper in the catalytic activity

J.Biol.Chem. 24o: 4763-4773 (1965)

9. GANONG,W.F.

Medizinische Physiologie

W.Auerswald, Springer Verlag, Heidelberg (1972) S. 197, 297-313

1o. GEFFEN,L.B., B.G. LEVITT, R.A. RUSH

Immunological localization of chromogranics in shey sympathetic neurons and their release by nerve impulses

J.Physiol.(london) 2o4: 58-59 (1969)

11. GERWITZ,G., I.J.KOPIN

Release of dopamine-ß-hydroxylase with norepinephrine during cat splenic nerve stimulation

Nature (London) 227: 4o6-4o7 (197o)

12. GOLDSTEIN,M., L.S.FREEDMAN, M.BONNAY

Assay for dopamine-ß-hydroxylase activity in tissues and serum

Experientia 27: 632-633 (1971)

13. GRANT,C., J.D. ROUTH, W.LAWTON, D.L.WITTE

The effects of therapy for mild hypertension on circulating level of dopamine-ß-hydroxylase

Clin.Chim.Acta 69 (2) 333-34o (1976)

14. GRZANNA,R., J.COYL

Immunochemical study on the turnover of rat serum dopamine-ß-hydroxylase

Mol.Pharmocol. 13 (5): 956-964 (1977)

15. HORWITZ,J., R.W. ALEXANDER, W.LOVENBERG, R.H.KEISER

Human serum dopamine-ß-hydroxylase

Circ.Res. 32:594 (1973)

16. IKENO,T., S.HASHIMOTO, H.KUZUYA, T.NAGATSU

Purification and properties of human serum dopamine--ß-hydroxylase

Mol.Cell.Biochemie 18 (2-3): 117-123 (1977)

17. KIRSHNER, N.

Pathway of noradrenaline formation from dopa

J.Biochem. 226: 821-825 (1963)

18. LAKE,G.R., M.G.ZIEGLER, M.COLEMAN, I.J.KOPIN

Lack of correlation of plasma norepinephrine and dopamine-ß-hydroxylase

Circ.Res. 41(6): 865-869 (1977)

19. LEVITT,M., J.MUNDLEWICZ

A genetic study of plasma dopamine-ß-hydroxylase in affective disorder

Mod.Probl.Pharmacopsychiatry 10: 89-98 (1975)

20. MARKIANOS,E.S., J.E. NYSTROEM

Serum dopamine-ß-hydroxylase assay and enzym properties

Z.Klin.Chem.Klin.Biochemie 13(7): 273-276 (1975)

21. MIRAS-PORTUGAL, M.T., D.AUNIS, P.MANDEL

Human serum dopamine-ß-hydroxylase purification, molecular weight, presence of sugar and kinetic properties

Biochemie 57(6-7): 669-675 (1975)

22. MUNDLEWICZ,J., M.LEVITT, J.L. FLEISS

A genetic study of plasma dopamine-ß-hydroxylase activity in man

Acta genet.med.Gemellol (Roma) 24(1-2): 105-110 (1975)

23. NAGATSU,T., K.HIROSHI, H.HIROSHI
Inhibition of dopamine-ß-hydroxylase by sulfhydryl compounds and the natural inhibitors
Biochem.Biophys.Acta 139: 319-327 (1967)

24. NAGATSU,T., S.UDENFRIEND
Photometric assay of dopamine-ß-hydroxylase
Clin.Chem. 18: 980-983 (1972)

25. NISHIZAWA,Y., N.HAMADA, S. FUJI, D.HIROSHI, K.OKUDA, M.WADA
Serum dopamine-ß-hydroxylase activity in thyroid disorders
J.Clin. Endocrinol.Metab. 39: 599 (1974)

26. NOTH,R.H., S.W.SPAULDING
Decreased serum dopamine-ß-hydroxylase in hyperthyroidism
J.Clin.Endocrinol.Metabol 39: 614 (1974)

27. PERRY,L.B., R.M.WEINSHILBOUM, P.A.THEYE
Plasma dopamine-ß-hydroxylase activity and catecholamine levels in anesthetized dogs following acute haemorrhage
Anesthesiology 43(5): 518-524 (1975)

28. PFANNENSTIEL, P.
Diagnosis of thyroid disease
Byk Mallinckrodt Radiopharmazeutika-Diagnostika, S:15 (1975)

29. POTTER,L., J.AXELROD

Properties of norepinephrine storage particles of the rat heart.

J. Pharmacol. Exp. Ther. 142: 299-305 (1963

30. POTTER DE,W.P., A.F,DE SCHAEPDRYVER, F.J. MOERMANN, A.D. SMITH

Evidence for the release of vesicle proteins together with noradrenaline upon stimulation of the splenic nerve (abstr.).

J. Physiol. (London) 204: 102-104 (1969)

31. ROCKSON,S.G., R.A. STONE, F. ODERE, J.C. GUNNELES

Plasma dopamine-ß-hydroxylase in the diagnosis of neuroblastoma

Cander, 37 (1): 386-389 (1976)

32. RUDORFF,K.H., H. HERRMANN

Schilddrüse

Sonderdruck aus: Methoden der klinischen Pharmakologie, S.: 517 - 537, Urban Schwarzenberg (1978)

33. RUSH. R.A., L.B. GEFFEN

Radioimmunessay and clearance of circulating dopamine-ß-hydroxylase

Circ. Res. 31: 444 (1972)

34. SCHAUBERG, S.M., R.A. STONE, N. KIRSCHNER, J.G. GUNNELLS, R.R. ROBINSON

Plasma dopamine-ß-hydroxylase: a passible aid in the study and evaluation of hypertension

Science 183: 523-525 (1974)

35. SIEGENTHALER,W.

Phathophysiologie

Georg Thieme Verlag Stuttgart: S: 173-177 (1973)

36. STOFFER,S.S., J. NAI-SIANG, G.A.GORMAW, G.M. PICKLER

Plasma catecholamines in hypothyroidism and hyperthyroidism

J.Clin. Endocrinology Metab. 36: 587 (1973)

37. STONE,R.A., J.J. LILLEY, J. GOLDEN

Plasma dopamine-ß-hydroxylase activity in phaeochromocytoma

Clin. Endocrinol. (Oxf.) 5 (2): 181-185 (1976)

38. STURM,A., H.W. SCHEJA, F. PUENTES

Differentialdiagnose der erhöhten Katecholaminausscheidung bei arterieller Hypertonie

Deutsche med. Wschr. 95: 886-898 (197o)

39. TATA, J.R.

Groth and development action of thyroid hormons at the cellular level

Handbook of Physiology, Section 7: Endocrinology, Vol. III: Thyroid, 1. Auflage, Greer, M.A. Solomon, D.H. (Eds) Williams and Wilkins Comp., Baltimore 1974

40. VIVEROS,O.H., L.ARQUEROS, R.CONNETT, N.KIRSHNER
Mechanisme of secretion from the adrenal medulla
Life Sci. 2o4: 5o-59 (1969)

41. VIVEROS,O.H., L. ARQUEROS, N.KIRSHNER
Release of catecholamines and dopamine-ß-oxidase from the adrenal medulla
Life Sci. 7: 6o9-61o (1968)

42. WIEDEKING, C., C.R. LAKE, A. ZIEGLER, A.A.KOWARSKI, J. MONEY
Plasma noradrenaline and dopamine-ß-hydroxylase during sexual activity
Psychosom. Med. 39 (2): 143-148 (1977)

43. WEINSHILBOUM, R.M.,
Serum dopamine-ß-hydroxylase activity and blood pressure
Majo Clin. Proc. 52 (6): 374-378 (1977)

44. WEINSHILBOUM, R.M., J. AXELROD
Dopamine-ß-hydroxylase activity in the rat after hypophysectomie
Endocrinology 87: 894 (197o)

45. WEINSHILBOUM, R.M., J. AXELROD
Serumdopamine-ß-hydroxylase activity
Circ.Res. 28: (1971)

46. WEINSHILBOUM, R.M., H.G. SCHOROTT, F.A. RAYMOND, W.N. WEIDMANN, C.R. ELVEBACK

Inheritance of very low serum dopamin-ß-hydroxylase activity

Am.J. Hum. Genet. 27 (5): 573-585 (1975)

47. WEINSHILBOUM, R.M., N.B. THOA, D.G. JOHNSON, I.J. KOPIN, J. AXELROD

Proportinal release of norepinephrine and dopamine -ß-hydroxylase from sympathetic neurons

Sciene 174: 1349 (1971)

Lebenslauf

Name, Vorname:	Jakob, Ursula
Geburtsdatum:	o2.o5.1953
Geburtsort:	Ibbenbüren
Vater:	Dr. Karl Jakob, Arzt
Mutter:	Dr. Gertrud Jakob, Ärztin
Schulbesuche:	1959-1963 Kath. Volksschule Weseke/Westf.
	1963-1971 Mädchengymnasium der Canisiusschule Ahaus/Westf.
Abitur:	11. Mai 1971
Studium:	WS 71/72 Studium der Psychologie an der Universität Münster
	SS 72- SS 79 Studium der Medizin an der Universität Düsseldorf
	15.o8.73 naturwissenschaftliche Vorprüfung
	o8.1o.74 ärztliche Vorprüfung
	29.o8.75 I. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
	17.o3.78 II. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
	April 78 - März 79 Praktisches Jahr an der Universität Düsseldorf
	22.o5.79 Ärztliche Prüfung
	seit dem 1. Oktober 1979 Assistenzärztin in der chirurgischen Abteilung des St. Josef Krankenhaus Hilden